



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KOLOREKTAL KANSERDE MAST HÜCRE
DANSİTESİ ile MİKRODAMAR
YOĞUNLUĞU, VEGF, EGFR, P53, KI-67, CEA
EKSPRESYONUNUN PROGNOSTİK ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. FİLİZ YILDIRIM

DANIŞMAN

Doç. Dr. A. Vahit YÜKSELEN

AYDIN-2008

TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim süresince her an desteğini hissettiğim Gastroenteroloji B.D. Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Ali Önder KARAOĞLU'na ve İmmunoloji/Romatoloji B.D. Başkanı Prof. Dr. Taşkın ŞENTÜRK'e, bilgi ve deneyimlerinden yararlanma olanağı bulduğum ve yetişmemde değerli katkıları olan başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Engin Güney olmak üzere Prof. Dr. A. Zahit BOLAMAN, Prof. Dr. Hadi YAŞA, Prof. Dr. Hulki Meltem SÖNMEZ, Doç. Dr. Gürhan KADIKÖYLÜ, Doç. Dr. Harun AKAR, Doç. Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU'na,

Halen Medikal Onkoloji B.D.'nin takibinde olup kısmen verilerinden faydalandığım hastalar konusunda yakın desteklerini ve yardımlarını gördüğüm Doç. Dr. Sabri BARUTCA ve Doç. Dr. Nezih MEYDAN'a,

Tez çalışmam süresince bilgisi ve birikimi ile bana yardımcı olan, tezimle ilgili konuların çözümüne katkıda bulunan sayın hocam Prof. Dr. Ömer ÖZÜTEMİZ'e,

Tez çalışmalarımda katkılarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. İbrahim METEOĞLU'na ve patoloji çalışanlarına,

Çalışma ile ilgili istatistiksel verilerin değerlendirilmesinde yardımcı olan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Timur KÖSE'ye,

Tez çalışmam ve uzmanlık eğitimimin tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, deneyim ve eşsiz bilgilerinden yararlandığım tez danışmanım örnek akademisyen Doç. Dr. Vahit YÜKSELEN'e

Asistanlığım süresince dostluğunu ve desteğini esirgemeyen Dr. Songül ÇILDAĞ ve ailesine, tüm asistan, hemşire, sekreter arkadaşlarıma ve personelimize,

Manevi ve maddi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, tüm sıkıntılarımı paylaşan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

KISALTMALAR

HPCC :	Hereditör Polipozis Kolorektal Kanser
HNPCC :	Hereditör Nonpolipozis Kolorektal Kanser
DNA :	Deoksiribonükleik asit
AJCC :	Amerikan Joint Committee on Cancer
UICC :	Union Internationale Contre Le Cancer
VEGF :	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
FBF :	Fibroblast Büyüme Faktörü
TGF α ve β :	Transforming Büyüme Faktörü α ve β
PDGF :	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PAF :	Trombosit Aktive Edici Faktör
PGD2 :	Prostaglandin D2
LTB4 :	Lökotrien B4
IL :	Interlökin
GM-CSF :	Granülosit- Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
EGF :	Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR :	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
CEA :	Karsinoembriyonik Antijen
TNF α :	Tümör Nekrozis Faktör α
MHD :	Mast Hücre Dansitesi
MDY :	Mikro Damar Yoğunluğu
CD-31 :	Kompleman 31 (endotel hücre yüzey antijeni)
CD-34 :	Kompleman 34 (endotel hücre yüzey antijeni)
FISH :	Floresan İn Situ Hibridizasyon
vWf :	Von Willebrand faktör,
< :	Küçük
> :	Büyük
n :	Grubu Oluşturan Vaka sayısı
SD :	Standart Sapma
p :	Significant (anlamalı fark var)
kDa :	Kilodalton
cm :	Santimetre

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
MATERYAL METOD.....	29
BULGULAR.....	33
TARTIŞMA.....	46
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	57
ÖZET.....	58
SUMMARY.....	59
RESİMLER.....	60
KAYNAKLAR.....	64

GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal kanserler Kuzey Amerika, Batı Avrupa, İskandinavya, Yeni Zelanda ve Avustralya gibi gelişmiş ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak rastlanan ve kanser ilişkili ölümlerin yaklaşık %10'undan sorumlu olan tümörlerdir (1,2). Dünyada en sık görülen dördüncü kanser tipi olup, kansere bağlı ölümlerde erkeklerde ikinci, bayanlarda üçüncü sıradadır (3). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı istatistiklerine göre 1999 yılında toplam 1804 yeni kolorektal kanser olgusu görülmüştür (4).

Kolorektal kanserlerin etyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik faktörler, çevresel faktörler ve premalign lezyonlar önemli rol oynamaktadır (5).

Kolorektal karsinomların tedavi şeklinin seçiminde ve prognozun belirlenmesinde, yaş, cinsiyet, serum karsinoembriyonik antijen (CEA) düzeyi, tümör lokalizasyonu ve boyutu, lokal yayılım, obstrüksiyon, perforasyon, vasküler invazyon, mikroskopik tümör tipi, lenf nodu tutulumu, evre ve anjiogenez göz önüne alınmaktadır (1,6).

Klasik histopatolojik parametreler yanında p53 gibi tümör süpresör genleri, Ki-67 gibi hücre proliferasyon belirleyicilerinin kolorektal kanserli hastaların prognozunun ve tedavilerinin saptanmasında önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir (6).

Yeni damar oluşumu; tümör progresyonu, yayılımı ve invazivliğine ana süreçtir. Anjiogenezis tümör, çevre dokular, lenfosit, makrofaj, mast hücresi ve endotelial hücreler tarafından üretilen ve sekrete edilen çeşitli anjiogenik faktörlerce indüklenir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda çok sayıda farklı anjiogenik faktör gösterilmiş ancak ana faktör ve onun mekanizması hala bilinmezliğini korumaktadır (7).

Mast hücreleri bağ dokuda damar ve sinirler çevresinde aynı zamanda epitelyal yüzeyler altında submukozada geniş dağılım göstermektedir (8). Mast hücrelerinin inflamasyon, hipersensitivite, fibrosiz ve anjiogenezisteki rolleri iyi bilinmektedir. Son yıllarda çeşitli malignitelerde mast hücre varlığı ve tümör büyümesindeki rolleri bildirilmiştir (9).

Bu çalışmada anjiogenezisi gösteren mast hücre dansitesi (MHD), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), epitelyal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), CD-31 ve CD-34 antikoru kullanılarak ölçülen mikro damar yoğunluğu (MDY), proliferatif indeksi gösteren Ki-67 ve tümör süpresör gen p53 mutasyon varlığının prognoza olan katkıları ve bu immunohistokimyasal parametrelerin birbiri ile olan ilişkileri araştırılmaktadır.

GENEL BİLGİLER

ANATOMİ

Kalın barsak ileumun bitiminden anüse kadar uzanır ve ortalama 150 cm uzunluğu ile sindirim kanalının 1/5'ini oluşturur.

Kalın barsak periton içinde ve retroperitoneal alanda karaciğer, dalak, mide, ince barsaklar, böbrekler, üreterler ve mesane gibi çok sayıda organla komşuluk gösterir. Kalın barsak ince barsaktan daha geniştir ve ileum-çekum birleşme yerinde kalın barsak içeriğinin ince barsağa geçişini engelleyen ileoçekal valv olarak adlandırılan bir kapak bulunur. Kalın barsaklar ince barsaktan farklı olarak longitudinal kas liflerinin yoğunlaşmasıyla oluşan tenyalara (tenya libera, tenya omentalis, tenya mezokolika), yağ dokusundan oluşan yaprak şeklinde periton ile örtülü "appendices epiploica" lara ve sirküler kas liflerinin oluşturduğu fonksiyonel ceplenmeler olan haustralara sahiptirler.

Kalın barsak çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum olmak üzere bölümlere ayrılmıştır (Şekil 1).

Çekum; kalın barsağın ilk parçasıdır. Sağ iliak çukurda intraperitoneal yerleşmiştir. Uzunluğu 4-8 cm, çapı 7.5-8.5 cm olup kolonun en geniş kısmıdır.

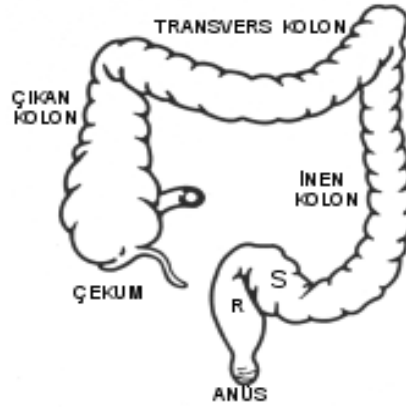
Çıkan kolon; çekumdan karaciğerin sağ lobunun alt yüzüne kadar uzanır ve burada hepatic fleksurayı yapar. Yaklaşık 15-20 cm uzunluğundadır. Ön ve yan yüzleri peritonla örtülüdür.

Transvers kolon; hepatic fleksura ile splenic fleksura arasında uzanır. Ortalama 50 cm (30-60) uzunluğundadır. Transvers kolonun sağ ucu duodenum ikinci parçasına ve pankreas başına tutunmuştur. Pankreas başından splenic fleksuraya kadar tamamı peritonla örtülüdür ve mezokolon ile karın arka duvarına tutunur.

İnen kolon; splenic fleksuradan sol iliak fosaya kadar uzanır. Ortalama 25 cm uzunluğundadır. Yan ve ön yüzü periton ile örtülüdür. Arka yüzü gevşek bağ dokusu ile karın arka duvarına yapışıktır.

Sigmoid kolon; krsta iliaka hizasında psoas major kasının iç kenarından başlar; 3. sakral vertebra hizasında rektumda sonlanır. Ortalama uzunluğu 40 cm olup çapı kolonun en dar yeridir (ortalama 2.5 cm). Tamamen peritonla sarılıdır ve mezokolon ile karın arka duvarına tutunmuştur.

Rektum; 3. sakral vertebra hizasından başlayıp sakrum eğilimini takip ederek anal kanalla devamlılık gösterir. Uzunluğu 12-15 cm arasındadır. 2/3 üst kısmı peritonla örtülüdür. Ön yüzü örten periton mesaneyeye geçerek erkekte “excavatio rectovezicalis” i, uterusu geçerek kadında “excavatio rectouterina (Douglas çukuru)” yı oluşturur. Arka yüzde ise sigmoid kolona kadar retroperitonealdir. Rektumda haustralara, “appendices epiploica” lar, mezenter ve tenyalar yoktur (2,10,11).



Şekil 1. Kalın Barsak Bölümleri (S: sigmoid kolon, R:rektum)

HİSTOLOJİ

Kalın barsak duvarı dört tabakadan oluşmaktadır: Mukoza, submukoza, muskularis propriya ve seroza (rektumda perimuskuler doku). Mukoza da epitel, lamina propriya ve muskularis mukoza olmak üzere üç tabakaya ayrılır.

1. Tunika mukoza: Mukozal yüzey tek sıralı alçak kolumnar veya küboidal epitelle döşeli olup absorbtif hücreler ve goblet hücreleri içerir. İmmatür ve indiferansiye prekürsör hücreler, endokrin hücreler ve Paneth hücreleri kriptlerin bazalinde bol miktarda bulunur. Lamina propriada kollajen lifler, düz kas demetleri, sinirler, kapiller ve lenfatikler arasında seyrek dağılım gösteren lenfosit, plazma hücresi, histiyosit ve mast hücreleri mevcuttur. Lamina propria ayrıca lenfoid nodüller içerebilir. Muskularis mukoza kapillerler ve lenfatiklerle sarılı kas ve sinir lifleri içerir.

2. Tunika submukoza: Lamina proprianın hücresel içeriğine sahip, nöral pleksusu bulunan, gevşek bağ dokusundan oluşmuş bir tabakadır.

3. Tunika muskularis: İçte sirküler, dışta longitudinal kas tabakalarından oluşmuştur ve bunların arasında miyenterik Auerbach pleksusu mevcuttur.

4. Tunika seroza: Tek sıralı yassılaşıymış ya da küboidal mezotelyal hücreler ile döşeli peritondan ve fibroelastik dokudan oluşur. Kan damarları ve lenfatikler içerir. Çekum, appendiks, transvers kolon ve sigmoid kolonu tam olarak sarar. İnen kolon, çıkan kolon ve rektumun distali ile anal kanal peritonun arkasında kalır (2,11,13).

FİZYOLOJİ

Kalın barsakların başlıca görevi depolama, emilim, taşıma ve salgılamadır. Kolonun geniş lümeni, proksimalde ileoçekal kapak, distalde anal sfinkterler arasında kapalı tutularak en önemli işlev olan emilim gerçekleştirilir.

Salgılama; klorür emilimi karşılığında az miktarda bikarbonat lümene verilerek ortamın alkali olması sağlanır (pH: 8-8.4). Potasyum salgılanan mukus ile lümene geçer.

Emilim; hergün yaklaşık 600-1000 ml ileum içeriği kolona geçer. Bunun %90'ını sudur. Ancak dışkı ile atılan su miktarı 180 ml düzeyindedir. Su emiliminin hemen tamamı çekum ve çıkan kolonda meydana gelir. Ayrıca kolonda sodyum, klor, sakkaroz ve laktoz da emilir.

Depolama; kalın barsaklar dışkı ve bazı gazları depolarlar. Normal dışkının %70'i su, %30'u ise katı maddelerden oluşur.

Motilite; kalın barsaklarda itici ve itici olmayan tip olmak üzere iki farklı hareket görülür. İtici olmayan hareketlerde haustraların sırayla kasılmasıyla kolon içeriğinin karışması ve sıvı elektrolit emilimi ve değişimi için mukoza teması sağlanmış olur. İtici tip hareketlerde içerik distale doğru taşınır. Bu taşıma birden fazla haustranın birarada kasılması, kütleli itme ve peristaltik hareketlerle olur. Ender olarak antiperistaltik hareketler de görülebilir. Normalde ağızdan alınan gıda 4.5 saatte çekuma gelir, 6 saat içinde çıkan kolonu doldurur, sağ fleksuraya erişir, 12 saatte sol fleksuraya varır ve yaklaşık 20 saatte rektosigmoide ulaşır (11).

KOLOREKTAL KANSERLER

İNSİDANS VE PREVELANS

Kolorektal kanserler Kuzey Amerika, Batı Avrupa, İskandinavya, Yeni Zelanda ve Avusturalya gibi gelişmiş ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak rastlanan ve kanser ilişkili ölümlerin yaklaşık %10'undan sorumlu olan tümörlerdir (1,2). Dünyada en

sık görülen dördüncü kanser tipi olup, kansere bağlı ölümlerde erkeklerde ikinci, bayanlarda üçüncü sıradadır (3). Dünya Sağlık Örgütünün verilerine göre her yıl 945 bin kişi kolorektal kansere yakalanmakta ve 492 bin kişi kolorektal kanser nedeniyle ölmektedir (14). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı istatistiklerine göre 1999 yılında toplam 1804 yeni kolorektal kanser olgusu görülmüştür (4).

EPİDEMİYOLOJİ

Kolorektal kanserlerin yaşla birlikte görülme sıklığı da artar. Predispozan faktörler (pozitif aile anamnezi, kronik inflamatuvar barsak hastalığı vb.) olmadıkça 40 yaş altında nadir görülür. Ortalama tanı yaşı 62'dir (1). Genel olarak erkek cinsiyette daha fazla görülmektedir (15). Nelson ve arkadaşlarının yaptığı epidemiyolojik bir çalışmada kolorektal kanserlerin insidansını erkeklerde kadınlardan daha fazla bulmuşlardır. Proksimal lokalizasyonlu kanserlerde erkek kadın oranının 1.32; distal lokalizasyonlu kanserlerde ise 1.68 olduğunu bildirmişlerdir (16).

ETYOLOJİ

Kolorektal kanserlerin etyolojisi kesin olarak bilinmiyor. Ancak yüksek proteinli, yağdan zengin, az lifli diyetle beslenmek, ileri derecede yaşlanmak, birinci derece akrabasında kolon kanseri bulunması, inflamatuvar barsak hastalığı olması, ailesel polipozis sendromu bulunması kişilerde kolon kanseri riskini arttırır. Kısaca etyolojide genetik faktörler, çevresel faktörler ve premalign lezyonlar önemli rol oynamaktadır (5).

1. Genetik Faktörler: Herediter kolorektal kanserler tüm vakaların %6-10'unu oluşturmaktadır. Bu hastalıklar klasik olarak; çok sayıda polip ile karakterize polipozis sendromları ve polip içermeyen ya da çok az sayıda polip içeren nonpolipozis sendromları şeklinde sınıflandırılabilir.

Herediter polipozis kolorektal kanserler (HPCC): Otozomal dominant geçiş gösteren Familial Adenomatöz Polipozis, Gardner sendromu ve otozomal resesif geçiş gösteren Turcot sendromu zemininde gelişirler. Sporadik vakalara oranla daha genç yaşta ortaya çıkarlar (12).

▪ **Familial Adenomatöz Polipozis:** Tüm gastrointestinal sistemi tutabilen, daha ziyade kolon ve rektumda çok sayıda polipoid oluşumla karakterize ailevi bir

hastalıktır. ABD’ de tüm kolorektal kanser vakalarının yaklaşık %1’ini familial adenomatöz polipozisli hastalarda gelişen kanserler oluşturmaktadır.

▪ **Gardner Sendromu:** Kolon ve ince barsakta multipl polipler, mezenter ve abdominal duvarda desmoid tümörler, lipomlar, osteomlar, fibromlar, diş anomalileri, deri lezyonları ile karakterize bir hastalıktır. Bu hastalar kanser gelişimi açısından yüksek risk altındadırlar. Ayrıca bu hastalarda gastrointestinal kanal dışı bazı maligniteler de izlenmektedir. Glioblastoma, tiroidin papiller kanseri, çeşitli endokrin malign tümörler, hepatoblastoma, safra kesesi ve yolları kanserleri, pankreas karsinomu bunlardan bazılarıdır.

▪ **Turcot Sendromu:** Kolon polipleri ve beyin tümörleri ile karakterize bir hastalıktır.

Hereditær nonpolipozis kolorektal kanser (HNPCC): Otozomal dominant geçiş gösterirler ve Lynch sendromu olarak adlandırılırlar. ABD’ de kolorektal kanser vakalarının %2 ile %8’ini oluşturmaktadır (12,17).

▪ **Lynch I:** Kolon dışı tutulumun olmadığı bu grupta tümör, genellikle erken (ortalama 45) yaşlarda başlayıp %70 oranında proksimal kolonu tutar.

▪ **Lynch II:** Başta endometrium, over, üreter/renal pelvis, mide, ince barsak, hepatobiliyer sistem olmak üzere kolon dışı tümörlerin eşlik ettiği gruptur (12).

HNPCC tanısı için 1990 yılında alınan ve “Amsterdam kriterleri” olarak geçen “İnternational Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Carcinoma” (ICG-HNPCC) kriterleri revize edilerek şu şekilde belirlenmiştir:

a. Ailede biri birinci derecede olmak üzere iki ya da üç bireyde histopatolojik olarak tanı almış kolorektal kanser bulunması.

b. Kolorektal kanserin en az iki jenerasyonda ortaya çıkması.

c. En az bir vakanın 50 yaş altında tanı alması.

d. Kolorektal kansere neden olabilecek Familial Adenomatöz Polipozis sendromlarının olmaması (12,17).

2. Çevresel Faktörler: Ülkeler arasındaki insidans farklarından çevresel faktörler özellikle de beslenme alışkanlıkları sorumlu tutulmuştur. Bitkisel liflerden fakir, karbonhidrat ve yağdan zengin, antioksidan içermeyen, vitamin ve eser elementlerden yoksun beslenme tarzı kolorektal kanser gelişiminde etkili olmaktadır (1,6,13,18,19).

Kanser oluşmasında radyasyon tedavisi nadir fakat iyi tanımlanmış etyolojik bir nedendir (12,19). Az sayıdaki çalışmada, kolon kanserinin sigara kullanımı ve genetik

değişimler ile ilgisi incelenmiştir. Çalışmaların çoğunda, uzun dönemde sigara kullanımının, adenom riskini 2-3 kat artırdığı gösterilmiştir. Sigara içmek kolon kanser vakalarında bir risk faktörüdür (20). Safra asiti artışı, kolesistektomi, ureterosigmoidostomi, ileostomi ve anastomozlar, mesleki faktörler (asbest ve organik çözücülere maruziyet) bu grupta yer alır (10,11,12).

3. Premalign Lezyonlar:

- **Adenomlar:** Adenomlar, displastik kalın barsak epitel ve destekleyici stroma içeren benign tümörlerdir. Tek ya da çok sayıda olabilirler.

Adenomlar; boyutlarına, makroskopik görünümüne (sesil, pedinküllü, flat), yapısal özelliklerine (tubuler, villöz, tubulovillöz) ve displazi derecelerine (hafif, orta, ağır) göre sınıflandırılabilirler. Elli yaş altında sık görülmezler. Yetmiş yaş ve üstünde görülme sıklıkları %53-63 arasındadır. Kanser gelişme sıklığı benzer olmakla birlikte adenomlar erkeklerde kadınlardan üç kat fazla görülür.

Adenomların kanserleşme riski polipin çapı, sayısı, histolojik tipi ve atipi derecesi ile ilişkilidir. Histolojik tiplerine göre kanser gelişme sıklığı villöz adenomlarda %10-18, tubulovillöz adenomlarda %6-8, tubuler adenomda %2-3 şeklinde bulunmuştur. Bu oran, çapı 1 cm' in altında olan tubuler adenomlarda %0.3, tubulovillöz adenomlarda %1.5, villöz adenomlarda %2.5 iken 2cm'nin üstündeki tubuler adenomlarda %6.5, tubulovillöz adenomlarda %11.4, villöz adenomlarda %17'dir (1,2,12,18,19,21).

- **Kronik İnflamatuvar Barsak Hastalıkları:** Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı kolorektal kanser riskini artırdığı bilinen iki inflamatuvar barsak hastalığıdır.

Ülseratif koliti olan hastalarda kolorektal kanser insidansı artmış olarak belirtilmiştir. Bu oran önceki serilerde %5-10 arasında bulunurken günümüzde %2'ye yakındır ve tüm kolorektal kanserlerin yalnızca %1'ini oluşturmaktadır. Bu risk çocukluk çağında başlayan, 10 yıldan uzun süredir ve aralıksız devam eden tüm kolonu tutmuş vakalarda daha yüksektir. Yapılan bir çalışmada kanser gelişme riski 10 yıl içinde %3, 20 yıl içinde %23, 35 yıl içinde %43 olarak bulunmuştur (1,6,18).

Kolorektal kanserler, Crohn hastalığının da önemli bir komplikasyonudur. Crohn hastalığında kolon karsinomu gelişme riski, normal popülasyondan daha yüksek (yaklaşık üç kat) iken ülseratif kolitten daha düşüktür (1,12,19). Crohn hastalığının başlangıç yaşı 30'un altında ise kolorektal kanser gelişme riski 20.9 kat artmakta iken, başlangıç yaşı 30'un üzerinde ise bu risk 2.2 kat artmaktadır (17).

LOKALİZASYON

Kolorektal kanserlerin yaklaşık %50'si rektosigmoid bölgede, %30'u sağ kolonda, kalanı da kolonun diğer kısımlarında yerleşim gösterir. Ancak son yıllarda ras protoonkogen mutasyonlarını yüksek oranda içeren tümörlerin çekum, çıkan kolon ve transvers kolonda yerleşme eğiliminde olduğu görülmektedir. Benzer şekilde sağ kolon yerleşimli tümörler ileri yaşlarda, siyahlarda ve divertiküler hastalığı olanlarda daha sıktır. Kolorektal kanserlerin %3-6'sı birden çok odakta gelişebilir (1,2,6,12,18).

TÜMÖR YAYILIMI VE METASTAZ

Tüm kolorektal tümörler çevre dokulara direkt olarak invazyon ile ya da lenfatikler ve kan damarları ile metastaz yaparak yayılırlar. Metastatik yayılım en sık bölgesel lenf düğümleri ve karaciğerde görülür.

Diğer sık görülen metastaz bölgeleri; periton, akciğer ve overlerdir. Daha nadir metastaz bölgeleri santral sinir sistemi, kemik, testis, uterus ve oral kavitedir (1,6,13,18,19).

KLİNİK BULGULAR

Kolon kanserleri barsak alışkanlıklarında değişiklikler, rektal kanama, anemi, nonspesifik karın ağrısı gibi semptomlar gösterir. İlk ve en sık bulgu ise dışkılama alışkanlıklarındaki değişimdir.

Tümör sol kolonda yerleşmiş ise; lümenin darlığı, feçesin sert olması, tümörün daha çok anüler tarzda büyümesi nedeniyle konstipasyon bulguları sık görülür. Sağ kolon tümörlerinde ise lümen geniş, feçes daha sıvı kıvamlı ve tümör sıklıkla egzofitik büyüme gösterdiğinden tıkanma sık değildir. Nadiren kanserin bulunduğu alanda ya da rektosigmoidde yer alan tümörün obstruksiyonuyla distansiyona uğrayan çekumda perforasyon meydana gelir.

Rektal kanama ikinci sıklıkta bildirilen yakınmadır. Aşık ya da gizli olabilir. Karın ağrısı, yemeklerden sonra şişkinlik, bulantı, hazımsızlık gibi nonspesifik şikayetler görülebilir. Rektum tümörlerinde ağrılı dışkılama görülebilmekle birlikte bu geç dönem bulgusudur.

Hastaların yaklaşık %5'i kemik ağrısı, sarılık, patolojik kırık, nörolojik bulgular, tromboflebitler ve deri nodülleri gibi metastaz bulguları ile başvururlar. Ne yazık ki bu semptomlar ileri evre hastalıkta görülmektedir. Bu nedenle tümörün erken evrede

yakalanabilmesi için erkek ve kadınlarda belli aralıklarla proktosigmoidoskopik inceleme yapılmalıdır. Bu tip araştırma ile olguların yaklaşık %50'si saptanabilir (1,10,12,18,19).

KOLOREKTAL KANSERLERİN EVRELENDİRİLMESİ

Kolorektal kanserleri evrelemede üç farklı sistem kullanılır.

- 1. Dukes Sistemi**
- 2. Astler-Coller Sistemi**
- 3. TNM Sistemi**

1932'de Dukes, rektal karsinomların evrelemede yeni bir sistem oluşturdu ve bu kolon kanserlerine de uygulandı. Prognozla direkt ilişkisi olduğundan dolayı bu evreleme sistemi günümüzde pek çok kişi tarafından kullanılmaktadır. Kolay ve anlaşılır olması nedeniyle önemini korumaktadır. Bu sistemde sınıflama tümörün derinliği ve lenf bezi tutulumuna göre A, B, C olarak yapılmıştır (Tablo 1). 1936 yılında Dukes, kendi sınıflamasını modifiye ederek C evresini C1 ve C2 şeklinde ayırmıştır (1,2) (Tablo 2).

Tablo 1. 1932 Dukes Evrelemesi

Evre A	Tümör kolon duvarında sınırlı, Muskularis propriayı aşmamış.
Evre B	Tümör tüm kolon duvarını tutup muskularis propriayı aşmış, kolonda serozayı, rektumda perirektal dokuyu invaze etmiştir Lenf bezi tutulumu yok.
Evre C	Tümör lenf bezi metastazı göstermektedir.

Tablo 2. 1936 Dukes Evrelemesi

Evre A	Tümör kolon duvarında sınırlı, Muskularis propriayı aşmamış.
Evre B	Tümör tüm kolon duvarını tutup muskularis propriayı aşmış, kolonda serozayı, rektumda perirektal dokuyu invaze etmiştir. Lenf bezi tutulumu yok.
Evre C1	Bölgesel lenf bezlerinde metastaz yok.
Evre C2	Mezenterik kan damarları etrafındaki lenf bezlerinde metastaz mevcut.

1954 yılında Astler ve Coller tarafından başka bir evreleme sistemi geliştirilmiştir. Temelde Dukes sistemine benzemekle birlikte, derinlikleri farklı olan tümörlerde lenf düğümü tutulumunu da değerlendirmesiyle farklılık göstermektedir (Tablo 3).

Tablo 3. Astler-Coller Evrelemesi

Evre A	Tümör mukozada sınırlı.
Evre B1	Tümör submukozada sınırlı, lenf bezi metastazı yok.
Evre B2	Tümör muskularis propriayı aşmış, lenf bezi metastazı yok.
Evre C1	Tümör muskularis propriaya kadar uzanmış, ama aşmamış. Lenf bezi metastazı mevcut.
Evre C2	Tümör muskularis propriayı aşmış ve lenf bezi metastazı mevcut.

Daha ayrıntılı fakat prognozla Dukes kadar ilişkili olmayan başka bir evreleme sistemi olan TNM; AJCC (Amerikan Joint Committee on Cancer) ve UICC (Union Internationale Contre Le Cancer)'nin tümör, lenf bezi ve metastaz komponentlerini gruplandırmasıyla ortaya konmuştur (1,2) (Tablo 4).

Tablo 4. TNM Evrelemesi

Evre 0	Tis	N0	M0
Evre I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Evre IIA	T3	N0	M0
Evre IIB	T4	N0	M0
Evre IIIA	T1-2	N1	M0
Evre IIIB	T3-4	N1	M0
Evre IIIC	Herhangi bir T	N2	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

▪ **T= Primer Tümör**

TX: Primer tümörü bilinmeyen

T0: Primer tümörü yok

Tis: Karsinoma insitu

T1: Tümör submukozaya invaze

T2: Tümör muskularis propriaya invaze

T3: Tümör subserozaya ya da perirektal/perikolik dokuya invaze

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

▪ **N= Bölgesel Lenf Bezleri**

NX: Bölgesel lenf bezleri değerlendirilmemekte **N0:** Lenf bezi metastazı yok

N1: 1-3 lenf bezi tutulumu mevcut **N2:** 4 veya daha fazla lenf bezi tutulumu mevcut.

▪ **M= Uzak Metastaz**

MX: Uzak metastaz değerlendirilememektedir

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz mevcut.

Kolorektal kanserlerin farklı evreleme sistemlerine göre evreleme kriterleri ve sistemler arasındaki benzer, farklı özellikler gösterilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Farklı evreleme sistemlerine göre kolorektal karsinomlarda evreleme kriterleri

	Dukes	Astler-Coller	TNM
Mukozada sınırlı tümör invazyonu	A	A	Tis, N0
Submukozaya sınırlı tümör invazyonu, Lenf bezi tutulumu yok	A	B1	T1, N0
Submukozaya sınırlı tümör invazyonu, Lenf bezi tutulumu mevcut	C	C1	T1, N1-2
Kas tabakasında sınırlı tümör invazyonu, lenf bezi tutulumu yok	A	B2	T2, N0
Kas tabakasında sınırlı tümör invazyonu, lenf bezi tutulumu mevcut	C	C1	T2, N1-2
Kas tabakasının tamamı boyunca tümör tutulumu, lenf bezi tutulumu yok	B	B2	T3, N0
Kas tabakasının tamamı boyunca tümör tutulumu, lenf bezi tutulumu mevcut	C	C2	T3, N1-2
Tümör komşu organları tutmuş, lenf bezi tutulumu yok	B	B2	T4, N0
Tümör komşu organları tutmuş, lenf bezi tutulumu mevcut	C	C2	T4, N1-2
Diğer faktörlere bakılmaksızın uzak metastaz varlığı	D	D	T1-4, N0-2, M1

PROGNOZ

Çoğu geniş serilerde kolorektal karsinomun, küratif rezeksiyondan sonra 5 yıllık sağ kalım oranı %40-60 arasındadır. Rekürrenslerin %71'i ilk iki yılda, %91'i beş yılda meydana gelir (1,6,21).

Kolorektal karsinomlarda klinikopatolojik prognostik faktörler şunlardır:

- **Yaş:** Çok genç ve çok yaşlı hastalarda görülen tümörler kötü prognozla ilişkilidir. Gençlerdeki kötü prognoz, tanıdaki gecikme, zeminde ülseratif kolit varlığı, taşlı yüzük hücreli ve müsinöz karsinomların daha sık görülmesi ile ilişkilidir (1,6,18,19,22).
- **Cinsiyet:** Prognoz, kadınlarda erkeklerden biraz daha iyidir (1,6,18).
- **Serum CEA Düzeyi:** 5.0 ng/ml'den yüksek serum CEA seviyelerinin, tümörün evresinden bağımsız olarak prognoz üzerine kötü etkisi olduğu gösterilmiştir (1,6,21).
- **Tümör Lokalizasyonu:** Prognoz üzerine etkisi tartışmalıdır. Yapılan bir çalışmada, sol kolon karsinomlarının daha iyi prognozlu olduğu, sigmoid kolon ve rektumda olanların ise kötü seyirli olduğu gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise tümör lokalizasyonunun prognostik öneminin minimal olduğu sonucu elde edilmiştir (1,6,18).
- **Lokal yayılım:** Tümör genelde mukoza ve submukozaya sınırlı olduğunda prognoz mükemmeldir, serozaya yayıldığında ve bölgesel lenf bezlerini tuttuğunda prognoz kötüleşir (1,6,18,19).
- **Tümör Boyutu:** Tümör boyutu ile prognoz arasında korelasyon olmasına rağmen, bunun güvenilir prognostik faktör olmasını engelleyecek kadar çok istisna vardır. Tümör boyutu ve lenf nodu metastazı ilişkisi de benzer şekilde zayıftır (1,21).
- **Obstrüksiyon:** Dukes'e göre evrelenen bazı serilerde obstrüksiyon, bağımsız kötü prognostik faktör olarak bulunmuştur (1).
- **Perforasyon:** Barsak duvarında yaygın tümör invazyonu sonucu oluşan perforasyonda prognoz kötüdür (1).
- **Vasküler İnvazyon:** Vasküler invazyon varlığında, beş yıllık sağ kalım süresi belirgin azalma gösterir (1,6,18,19,21).
- **Mikroskopik Tümör Tipi:** Tümörün prognozu ile histopatolojik tipi ve diferansiyasyon derecesi arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Müsinöz karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom ve anaplastik karsinom klasik adenokarsinoma göre kötü prognozludur. Tümör stromasında eozinofiller, S-100 protein pozitif dentritik hücreler bulunması iyi prognoz göstergesidir (1,2).
- **Lenf Nodu Tutulumu:** Tümör lenf düğümlerine yayıldığında beş yıllık sağ kalım oranı belirgin düşüş gösterir. Tutulan lenf bezi sayısının fazla olması, bunların tümör apikalinde ve mezenter damar köklerinde olması ve perikapsüler yayılım bulunması

kötü prognoz göstergesidir. Pozitif lenf nodu sayısı 6'dan fazla ise beş yıllık sağ kalım oranı %10'dan daha azdır (1,6,12,19,21).

- **Evre:** Kolorektal kanserlerde prognozu belirlemede en önemli bulgu, lokal yayılıma, lenf nodu tutulumuna ve uzak metastaz olup olmadığına dayanan evrelemedir (1,2,6,12,18,21).

- **Anjiogenez:** Neovaskularizasyon, tümör büyümesinde kritik bir rol oynar. Mikrodamar düzeyinin yüksekliği kötü prognostik faktör olarak yorumlanmıştır. Kolorektal kanserlerde birbirinden bağımsız çalışmalarda anjiogenezin, nüks gelişimini öngördüğü ve sağ kalımda azalma ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (1,6,12,21).

TÜMÖR ANJIOGENEZİ

Anjiogenezin tümör gelişimi ve metastaz üzerine etkisi yaklaşık 25 yıl önce Folkman tarafından bildirilmiş ve değişik çalışmalarda araştırılmıştır. Anjiogenez büyüme, fertilitate ve yara iyileşmesi gibi normal fizyolojik olayların yanısıra diabetik retinopati, ateroskleroz, kronik inflamasyon, kanser gibi birçok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır. Tümörler direkt olarak anjiogenetik faktörleri salgılayabilecekleri gibi ekstrasellüler matriks içerisinde depolanmış anjiogenik bileşiklerin salınımını ve aktive edilmesini sağlayarak anjiogenezin stimüle eder (23,24,25). Ayrıca tümörle ilişkili damarlanma, tümörün infiltre ettiği lenfosit, makrofaj ve mast hücreleri tarafından sekrete edilen maddelerce de sağlanabilir. Bu olaylar komşu epitel hücrenin aktivasyonunu ve otonomik davranış paterni sergilemesini sağlayarak damarlanmanın artmasına sebep olur. Endotel hücrelerin aktivasyonu, bazal membran ve onu çevreleyen ekstrasellüler matriksin proteolizisine, endotel hücre proliferasyonuna ve migrasyonuna, anastomoz ve kan akımının sağlanabilmesi için gerekli olan tübül oluşumuna neden olmaktadır. Tümörün neden olduğu anjiogenez ile genellikle kıvrıntılı, spiral şekilli ve küçük çaplı damarlar oluşmaktadır. Tümör damarları yırtılma eğilimindedir ve az oksijenlenmiş kan içerir. Tümör damarları sadece endotel hücrelerden oluşmaz. Damarların üstünde tümör hücreleri de olur. Tümör damarlanmasının anormal yapısı tümörde anjiogenetik faktörlerin ve inhibitörlerin dengesiz ekspresyonuna neden oluyor olabilir (24,25,26).

Anjiogenezin Regülasyonu: Anjiogenez yara iyileşmesi ve kadın üreme siklusu (ovulasyon, menstruasyon, plasenta oluşumu, laktasyon) dışında nadiren görülmektedir (24,25). İnsan vücudundaki tüm endotel hücrelerinin ancak %0,01'inin herhangi bir zamanda bölünüyor olduğu tahmin edilmektedir. Bu da hücre döngüsünün santral sinir sistemi dışında

ne kadar yavaş olduğunu göstermektedir (24). İnvitro ve invivo olarak test edildiğinde sağlıklı bireyin birçok hücresinin anjiogenik olmadığı görülmektedir. Anjiogenezi baskılayan bileşiklerin salgılanması ile anjiogenik indükleyiciler nötralize edilir ve düşük seviyede kalmaları sağlanır. Malign tümörlerin çevresinde bu dengenin neovaskülarizasyona doğru yer değiştirmesi, indükleyicilerin sekresyonlarında artış ve inhibitör yapımında azalma sonucunda oluşur (24,25).

Anjiogenezi İndükleyicileri: Anjiogenezi indükliyen maddelerin çoğu tümör veya infiltre ettiği immün hücreler tarafından salınır ve endotel hücre aktivasyonuna neden olur. VEGF gibi indükleyiciler, endotel hücresindeki spesifik reseptörüne bağlanarak yeni damar oluşumuna yol açan olayları başlatırlar. Hücre dışı matrikste bağlı, inaktive formu ile depolanmış ve tümör tarafından salınan fibroblast büyüme faktörü gibi anjiogenik maddeler, proteolitik enzimlerin salınımına neden olurlar. Ayrıca, bazal membran proteolizi sonucu hyaluronik asit kökenli oligosakkarit parçaları da anjiogeniktir. Bu indükleyicilerin anjiogenezi dışında da birçok fizyolojik fonksiyonları bulunmaktadır (27) (Tablo 6).

Tablo 6. İzole Edilebilen Bazı Anjiogenik Büyüme Faktörleri ve Sitokinleri

Anjiogenez İndükleyicileri ve Sitokinleri

Transforming Büyüme Faktörü α ve β (TGF α ve β)

Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Anjiogenin

Mast Hücre Heparini ve Triptazı

Timidin Fosfarilaz

Interlökin-8 (IL-8)

Leptin

Tümör Nekrosis Faktör α (TNF α)

İnsülin-Like Büyüme Faktörü

Anjiogenez İnhibitörleri: İnhibitörler, tümör hücrelerinin anjiogenez indükleyicilerini salgılamasını önleyebileceği gibi salınan anjiogenik faktörleri endotel hücre yüzeylerinde inaktif hale getirerek antianjiogenik etki sağlanmaktadır. Ayrıca, trombospondin ve anjiostatin gibi bazı inhibitörler, endotel hücrelerine bağlanarak hücrenin birçok anjiogenik faktöre karşı duyarlılığını azaltabilmektedir (28) (Tablo 7).

Tablo 7. Normal Fizyolojide Regulator Rol Oynayan Endojen İnhibitörler

Anjiogenez İnhibitörleri

Trombospondin-I

Interlökin 4, 12, 18

Anjiostatin

Retinoidler

Vit D3 analogları

Laminin

Fibtonektin

Prolaktin

Plazminojen

Kollajen XVIII

MAST HÜCRELERİ

İlk kez 1879 yılında Paul Ehrlich tarafından mast hücrelerine “iyi beslenmiş” anlamına gelen “mastzellen” adı verilmiştir. Mast hücreleri metokromatik boyanan, sitoplazmik granülleri bulunan bağ dokusu hücreleridir. Bugüne kadar mast hücrelerine doku bazofili, heparinosit, histaminosit gibi isimler verilmiş ise de bugün mast hücresi adı kullanılmaktadır. Mast hücrelerinin kökeni ile ilgili çeşitli hipotezler vardır. Mast hücreleri ve bazofillerin kemik iliğindeki CD-34 (+) olan progenitor myeloid hücrelerden geliştikleri düşünülmektedir. Bazofiller kemik iliğinde olgunlaşıp kana karışırlar, mast hücreleri ise dokulara immatür olarak göç edip orada gelişimlerini tamamlarlar. Farklılaşmamış mast hücre progenitörleri CD-34, CD-13 ve c-kit eksprese ederler. Olgunlaşma esnasında CD-34 ile birlikte başka bazı reseptörleri kaybederler, ancak c-kit eksprese etmeye devam ederler (8,29,30).

Mast hücreleri 5-25 mikron büyüklüğünde, genelde yuvarlak fakat bazen poligonal ve elonge hücrelerdir. Nükleus oval ya da yuvarlaktır, genelde santral yerleşimli ama ekzantrik de olabilir ve sıklıkla intrasitoplazmik granüller tarafından maskelenmiştir. Sitoplazmalarında metakromatik granüller bulunur ve bunlar Giemsa ve Toluidin Blue ile boyanırlar (8).

Mast hücreleri mineralize kemik, kıkırdak ve kornea gibi avasküler dokular hariç tüm vücutta çok yaygın olarak bulunur. Bağı dokularında özellikle mukozal yüzeylerde kan ve lenf damarları ile periferik sinirlere yakın yerleşimli olarak yer alırlar. Bu stratejik yerleşimden ötürü, allerjenler ve mikroorganizmalar gibi çevresel uyarılara maruz kalırlar, dakikalar veya saatler sonra önceden hazırlanmış veya yeni sentez edilmiş mediatörleri salgılamaya başlarlar. Bugün mast hücreleri ve içerdikleri çok sayıdaki mediatörlerin doğal ve kazanılmış immunité, enfeksiyonlar, alerji, bazı kardiyovasküler ve nörolojik hastalıkların yanı sıra, yara iyileşmesi, fibrosiz, anjiogenesisiz ve otoimmün hastalıklarda rolleri olduğu düşünülmektedir (31,32,33).

Histamin ve serotonin gibi biyolojik aminler sekretuar granül içeriğinin önemli mediatörlerini oluştururlar. İnsanda mast hücreleri yalnızca histamin içerirken kemiriciler gibi bazı türlerin mast hücrelerinde serotonin de vardır. Mast hücrelerinde heparin ve kondroitin sülfat E proteoglikanları da bulunmaktadır. Bu proteoglikanlar mast hücre proteazlarını stabilize eder ve birçok enzimin biyolojik aktivitesini değiştirirler. Örneğin triptaz, heparin proteoglikanı ile bir makromoleküler kompleks içinde etkileşimde bulunarak enzimatik aktivitesini sürdürür (31,34).

Aktive olan mast hücreleri hücre membranlarında bulunan öncü maddelerden lipid mediatörleri sentezlerler. Duruma göre değişen bu mediatörler; araşidonik asit metabolitleri, prostaglandin D₂ (PGD₂), tromboksanlar, lökotrienler ve trombosit aktive edici faktörden (PAF) oluşurlar. PGD₂ trombosit agregasyonunu inhibe eder. Lökotrienler bronkospazmı uyarır, damar geçirgenliğini artırır, damarlardaki ve barsaklardaki düz kaslarda kontraksiyona neden olurlar. Lökotrien B₄ (LTB₄) nötrofiller ve eozinofiller için kemotaktik bir ajandır. PAF ise trombositlerin toplanmasını ve degranülasyonunu sağlar (34).

Mast hücresi fenotipine ve uyarıya göre çeşitli sitokinler sentezler (31). Bunlar mast hücresinin IgE aracılı aktivasyonundan sonra sentezlenen interlökinleri, IL-1,3,4,6,9,13, granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), kemokinleri ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α)'yı içerir. Sitokinlerin bazıları inflamatuvar, bazıları antiinflamatuvar etkili olabilirler. Bazı sitokinler farklı koşullarda her iki etkiyi de sergileyebilirler. Bunlara ek olarak, IL-10 ve TNF- α gibi mast hücre sitokinleri diğer sitokinlerin etkilerini arttırabilirler (35).

Sonuç olarak mast hücreleri başlıca üç gruba ayrılan çok sayıda biyolojik aktif mediatörün kaynağıdır:

1. Granüllerde depo edilenler: Histamin, serotonin, adenozin, heparin, triptaz, kimaz, elastaz, kollajenaz, karboksipeptidaz A veya B, katepsin, asit hidrolaz, oksidatif enzimler, β - galaktozidaz, β - glukorinidaz, arilsülfataz, β -heksaminidaz, kemotaktik faktörler
2. Uyarıdan sonra de novo sentezlenenler. Lipit mediatörler PAF, membran fosfolipit transformasyon ürünleri, prostaglandinler, lökotrienler, tromboksan
3. Sitokinler: İnterlökin (IL) 1,3,4,5,6,8,10, GM-CSF, TNF- α , TGF- β , VEGF, FGF (36).

Granüllerindeki farklı proteaz paternlerine göre iki temel mast hücre tipi tanımlanmıştır. Bunlardan biri yalnızca triptaz (MH_T) içerirken; diğeri triptaz, kimaz, katepsin G ve karboksipeptidaz (MH_{TC}) içerir. Yalnız kimaz içeren (MH_C) tipi de tanımlanmış fakat yaygın kabul görmemiştir. İmmünohistokimyasal çalışmalar MH_T' nin akciğer ve ince barsak mukozasında; MH_{TC}' nin ise deride ve gastrointestinal submukozada çoğunlukta olduğunu göstermiştir. Enzimatik olarak ayrılmış insan deri mast hücrelerinin (çoğu MH_{TC}) uyarıldıklarında PGD₂ ürettiği, LTC₄'nin üretiminin ise çok az miktarda ya da hiç olmadığı saptanmıştır. İnsan akciğer ve barsak mast hücrelerinde ise aynı yöntemle PGD₂ ve lökotrienlerin önemli miktarda üretildiği gösterilmiştir. Her iki mast hücre tipinde içerdikleri histamin miktarı bakımından bir fark bulunamamıştır. Fakat sitokin içeriklerine göre heterojeniktirler. Örneğin; IL-4 tercihen MH_{TC} alt tipinde dağılım gösterir. Bunun aksine IL-5 ve IL-6 hemen hemen tamamen MH_T alt tipinde sınırlıdır (37,38).

MAST HÜCRELERİNİN FONKSİYONLARI

- **Alerjik İnflamasyonda Mast Hücreleri:** Mast hücreleri; eozinofiller, lenfositler gibi infiltre olmuş hücreler ve epitelyal hücreler, düz kas hücreleri, fibroblastlar gibi yerleşik yapısal hücreler vasıtasıyla aktive olabilirler ve bu hücrelerle etkileşebilirler. Aktive olmuş mast hücreleri eozinofillerin kemotaksisi, aktivasyonu ve yaşamasına yardım eden mediatörler salgırlar. Ek olarak mast hücresi kökenli triptaz, eozinofillerde IL-6 ve IL-8 salınımını uyarır. Mast hücreleri, makrofajları ve epitel hücrelerini de lenfosit ve eozinofiller için kemotaktik maddeler oluşturmaları için uyarırlar (37) (Şekil 2).
- **Doğal Bağışıklıkta Mast Hücreleri:** Mast hücreleri esas olarak mikroorganizmaların vücuda girebildikleri yerlerde bulunduğu için patojenlerle direkt temas kuran ilk inflamatuvar hücrelerden biri olarak değerlendirilebilir. Mast hücrelerinin,

enfeksiyon bölgesine TNF- α salgıladığı, bunun dolaşımdaki nötrofiller gibi bakterisidal özellikleri olan lökositleri enfeksiyon bölgesine topladığı gösterilmiştir (39).

▪ **Kazanılmış Bağışıklıkta Mast Hücreleri:** Mast hücreleri, vasküler geçirgenliği arttıran ve enfeksiyon bölgesine inflamatuvar hücrelerin toplanmasını sağlayan mediatörler salgılayarak kazanılmış bağışıklıkta yer alırlar. T hücrelerinin farklılaşması için gerekli IL-4 mast hücrelerinden salgılanmaktadır. Mast hücresi sitokinlerinin, B hücrelerinde IgE yapımını uyardığı, mast hücrelerinin antijen işleyebilen ve sunabilen hücreler olarak da kazanılmış bağışıklıkta rol oynadığı bilinmektedir. Paraziter enfeksiyonlarda sıklıkla serum ve doku IgE düzeyleri ve mast hücre sayıları artmaktadır. Mast hücreleri lokal cevabı etkileyen mediatörler salgılayarak parazitleri direkt olarak etkileyebilir, eozinofiller gibi diğer hücrelerin toplanmasını ve aktive olmasını sağlayabilir, mukus sekresyonunu ve barsak peristaltizmini arttırarak parazitlerin atılmasına yardımcı olabilirler (39,40).

▪ **Yara İyileşmesi ve Fibroziste Mast Hücreleri:** Mast hücreleri fizyolojik yara iyileşmesi ve fibroziste görev alırlar. Akciğer, deri, sindirim sistemi, karaciğer, göz ve kalp gibi çeşitli hedef organlarda oluşun, farklı etiyopatolojilere sahip birçok fibrotik hastalıkta mast hücre hiperplazisi ve degranülasyon bulguları vardır. Fibrozisin esas sorumluları olan fibroblastları direkt etkileme potansiyeline sahiptirler. Histamin ve heparin fibroblastların çoğalmasını ve kollajen sentezini arttırmaktadır (34,37). Mast hücresindeki triptaz ve kimazın her ikisinin de fibronektin, laminin, kollejen tip IV ve V'i yıkıma uğratabildiği gösterilmiştir. Triptaz normal akciğer ve deri fibroblastlarında tip I kollajen yapımını uyarmaktadır (37).

▪ **Anjiogeneziste Mast Hücreleri:** Anjiogenez temel olarak embriyonik ve postnatal büyüme döneminde görülmekle birlikte erişkin normal dokularında, kadın üreme organları dışında, fizyolojik olarak yer almaz. Bununla birlikte yara iyileşmesi ve inflamasyon gibi yaşamı korumaya yönelik olaylarda anjiogenezis gerçekleşmesi, her dokuda endojen pro-anjiogenik ve anti-anjiogenik faktörler arasında değişebilen bir denge olduğunu gösterir (32,37).

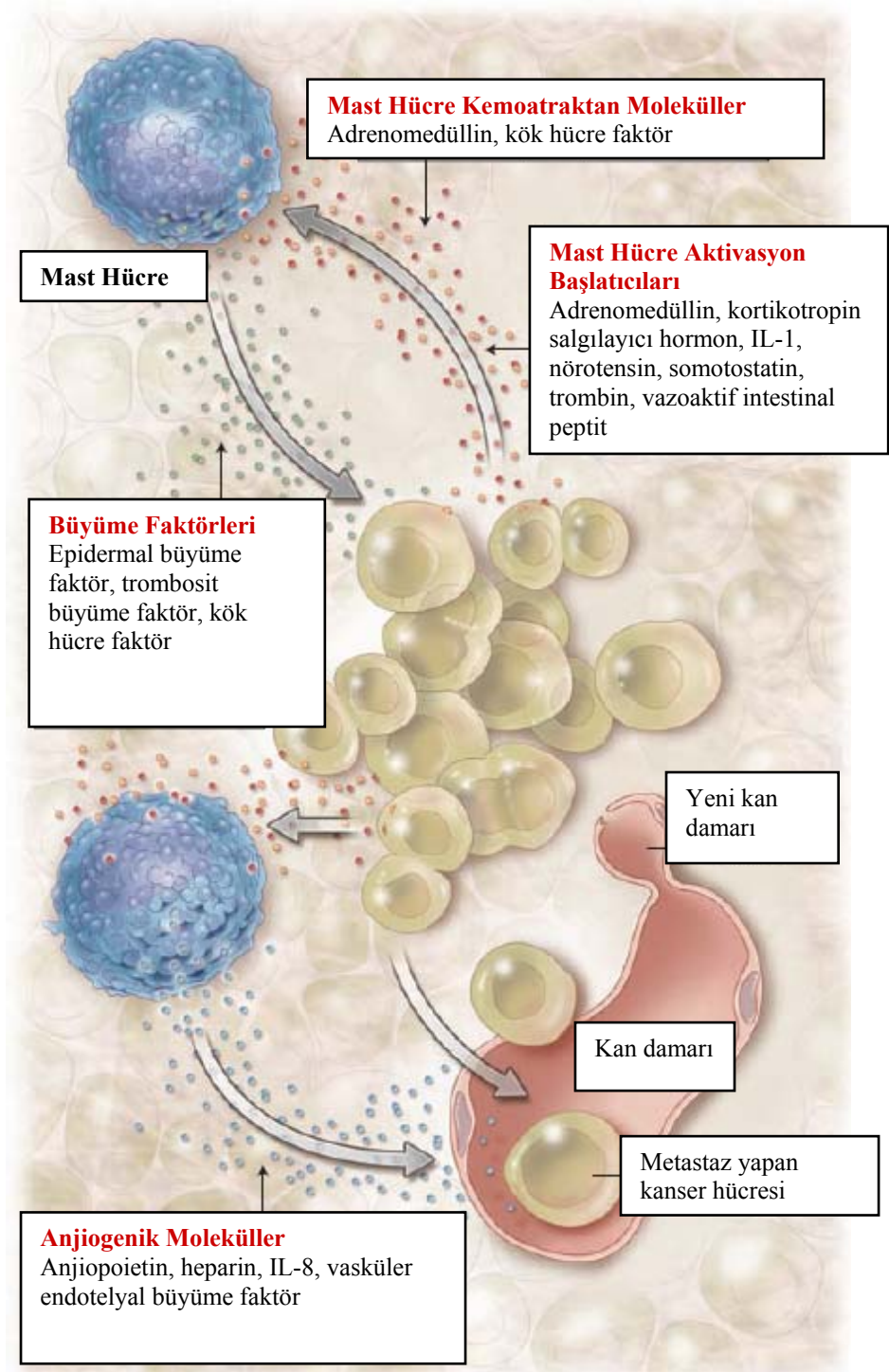
Mast hücreleri birbirleri ile etkileşen birçok yol aracılığı ile anjiogenezi uyarabilir ve arttırabilirler. Mast hücrelerinde bulunan VEGF, fibroblast büyüme faktör (FGF), transforming büyüme faktör β (TGF- β), TNF- α ve IL-8 gibi proanjiogenik faktörler mikrovasküler endotelial hücreleri çoğalmaları ve göç etmeleri için uyarırlar. Mast hücre proteazları (triptaz, kimaz, matriks metalloproteazları) neovasküler tomurcuklar için yer

sağlamak üzere ekstra selüler matriksi yıkıma uğrattır, aktive olmuş endotelial hücrelerin migrasyonunu kolaylaştırır (31,41). Histamin, VEGF, PGD₂, LTB₄ ve LTC₄ mikrovasküler permeabiliteyi artırarak, proanjiogenik etki yaparlar. Mast hücrelerindeki PAF trombositleri uyarır ve bunlardan proanjiogenik faktörlerin, bazen de antianjiogenik etkili faktörlerin salgılanmasına neden olur (31).

Mast hücre kemokinleri monosit/makrofaj, lökosit ve lenfositlerin kemotaksisine neden olur. Bu hücreler mast hücrelerini uyaran ve anjiogenezi düzenleyen moleküller salgılayabilirler. Mast hücre sitokinleri komşu hücreleri de (fibroblast/stromal hücreler) aktive ederler ve bunların proanjiogenik faktörler ve antianjiogenik proteinler salgılamalarına neden olurlar. Hem mast hücreleri hem de çevre doku hücrelerinden salgılanan VEGF, FGF ve TGF- β gibi proanjiogenik faktörler mast hücreleri için kemotaktik olup, neovaskülarizasyon bölgelerinde mast hücre sayısının artmasını sağlarlar (31,41).

Tümör modellerinde mast hücrelerinin malign transformasyona giden anjiogenik dönüşümün ilerlemesinde belirleyici bir rol oynadığı gösterilmiştir. Mast hücrelerinin anjiogenezi etkilediği, kanserin gelişimi ve ilerlemesinde etkili olduğu bilinmektedir (31) (Şekil 2).

▪ **Fibrinoliz ve Pıhtılaşmada Mast Hücreleri:** Mast hücre mediatörleri; sitokin sentezi, adezyon reseptörleri ekspresyonu ve damar duvarı geçirgenliğini değiştirmek yoluyla vasküler endotel hücrelerini direkt olarak etkilerler. PGD₂ trombosit agregasyonunu inhibe eder. Mast hücre triptazı da fibrinojeni yıkıma uğratabilme yeteneği nedeniyle antikoagulan aktivite gösterir. Fibrinolizi etkileyen iki enzim: doku plazminojen aktivatörü (tissue plasminogen activator: tPA) ve üriner tip doku plazminojen aktivatörüdür (ürokinaz: uPA). Triptaz pro-urokinazın aktivatörü olarak da tanımlanmıştır. Mast hücresinde bulunan heparin de triptazın ve tPA' nın kofaktörü olarak bilinmektedir. Histamin endotel hücrelerini von Willabrand faktörü serbestleşmesi ve tPA salgılamaları için uyarabilir. Mast hücrelerinin antitrombotik ve fibrinolitik maddeler eksprese etmesi, vasküler trombozun önlenmesi ve tamirinde bu hücrelerin önemli rolü olduğunu göstermektedir (42).



Şekil 2. Mast Hücre (9).

MİKRODAMAR YOĞUNLUĞU

Anjiogenez, tümör büyümesi ve metastazları için temel oluşturmaktadır ve bazı kanserlerde tümörün invazyon özelliği için belirteç olarak önerilmektedir. Histolojik kesitlerin endotelial antijenler kullanılarak boyanması ile elde edilen MDY anjiogenezin

sayısal ölçümüdür. Yüksek intratümöral MDY' na sahip primer tümörde uzak metastaz gelişme olasılığı çok muhtemeldir. İntratümöral yeni damar oluşumu meme, akciğer, kolon, endometrium, mesane ve prostat gibi bazı kanser tiplerinde anlamlı prognostik faktör olarak görünmektedir. Anjiogenezin değerlendirilmesinde von Willebrand faktör, CD-24, CD-31, CD-34, CD-105 gibi farklı antijenler kullanılmaktadır (43).

- *CD-31*: Endotel hücrelerinde 110, trombositlerde ise 130 kDa ağırlığında bulunan bir glikoproteindir. Hem normal hem de kanserli dokudaki endotel hücreleri ile reaksiyona girer. Ancak, frozen inceleme ve kan örneklerinde, CD-31 antikoru megakaryositler, trombositler ve nadiren plazma hücreleri ile de reaksiyona girebilir. Anjiogenezin derecesinin belirlenmesi için CD-31 antikoru immunohistokimyasal olarak boyanabilir (44).

- *CD-34*: Hematopoietik progenitör hücre antijenidir ve bilinmeyen fonksiyonlu transmembran proteindir. Endotelyal hücrelerde, fibroblast alt tiplerinde, Kaposi sarkomu, anjiosarkomların %50' sinde, dermatofibrosarkom protuberans ve soliter fibröz tümör gibi bazı endotelyal ve fibroblastik neoplazilerde CD-34 pozitif olabilir. Özofagustan rektuma tüm iyi huylu ve habis gastrointestinal tümörlerin yaklaşık %70-80' inde CD-34 pozitifdir. Habis olanlar iyi huylu olanlara göre daha az oranda CD-34 ekspresyon ederler. Özellikle kolorektal ve özofagial tümörlerde pozitifliği sık gözlenir (45,46).

VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ

Anjiogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulanı VEGF' dır. VEGF 46 kDa ağırlığında, heparin-binding glikoprotein yapısında bir moleküldür. VEGF, endotel hücre büyümesinde rol oynayan anjiyogenik bir faktördür. Damar geçirgenliğini artırır. Hücre dışı matriks yıkımından sorumlu olan matriks metalloproteazlar ile ürokinaz ve doku tipi plazminojen aktivatörlerinin salınımını da uyarır. Böylelikle invazyonu ve metastazı kolaylaştırır. Endotele spesifik mitojenik faktör olarak etki gösterir. Ekspresyonu çeşitli genlere ve proteinlere bağlı olarak değişim gösterir. Mutant p53 ve mutant ras ekspresyonu VEGF ekspresyonunu artırır (47).

VEGF yeni damar oluşumu sırasında kemik iliği kökenli endotel hücre öncülerinin mobilizasyonunda da önemli rol oynar (48). Arteriyel ve venöz sistemde yeni damar oluşumu sırasında endotel hücrelerinin apoptozun inhibisyonu ile yaşam sürelerinin artmasına, proliferasyonuna, migrasyonuna neden olarak direkt olarak anjiogenezde etkilidir.

VEGF aynı zamanda kan damarlarının vazodilatasyonuna ve doku ödemeine neden olmaktadır.

Solid tümörlerde, tümörün büyümesi, invazyonu ve metastaz yapması ile VEGF düzeyleri arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalarda meme, akciğer, prostat, kolorektal, safra kesesi ve karaciğer gibi birçok solid tümörde VEGF düzeylerini yüksekliğinin kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (49,50,51).

VEGF bazı ilginç özelliklere sahiptir. Aşağıda verilen bu özellikler kanser tedavisinde faydalı olmaktadır.

- a. VEGF, olgunlaşmış ve proliferasyon olmayan kan damarı endotel hücrelerinde kendi reseptörlerini indükler. Bu normal, istirahat halindeki endotel hücrelerinin VEGF reseptörü yoktur ama VEGF'e maruz kaldıklarında reseptörü üretirler.
- b. VEGF, kan damarlarının oluşumuna yol açan diğer birçok büyüme faktörünün üretimini ve aktivitesinin indükler.
- c. VEGF, c-ras ve VEGF üretimini daha ileriye götüren diğer onkogen ve büyüme faktörleri tarafından indüklenir.
- d. Normal gelişim için diğer faktörlere de gereksinim duyan normal kan damarlarının aksine, VEGF tarafından indüklenen kan damarları sızdırma özelliğine sahiptir. Örneğin, fibrinojen gibi VEGF ile indüklenen plazma proteinleri yeni oluşan damarlardan dışarı sızarlar. Böylece, tümörün etrafında süngerimsi bir jel oluşur. Bu jel VEGF içerir; bu durum anjiogenezi daha da ilerletir.
- e. VEGF'ün, indüklenmiş epitelyum hücrelerinde apoptosizi baskıladığı görülmektedir (52).

EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖRÜ

Epidermal büyüme faktörü (EGF) 1962'de keşfedildi (54). EGFR ise 1980 yılında keşfedilmiştir. Kanserle ilişkili bulunan ilk hücre yüzeyi reseptörü EGFR'dür (54). EGFR, 170 kDa ağırlığında transmembran hücre yüzey reseptörüdür. HER-1 ya da C-erbB1 olarak da bilinen EGFR; C-erbB2, C-erbB3 ve C-erbB4 ile aynı aileden olup tirozin kinaz aktivitesi gösterir. EGFR geni 7p12 kromozomunda lokalizedir (22,54,55,56,57).

EGFR, üç bölgeden oluşur: Hücre dışı ligandların bağlandığı N terminali, hidrofobik transmembran bölgesi ve hücre içi yerleşimli tirozin kinaz aktivitesine sahip C terminali. Büyüme faktörlerinin EGFR ile etkileşimiyle EGFR'de dimerizasyon ve ardından

otofosforilasyon olarak, mitojenik sinyalizasyonunda rol alan sitoplazmik proteinlerin aktivasyonu meydana gelir (54). EGFR aktivasyonu; hücrede adezyonu, proliferasyonu, diferansiyasyonu, apoptozisi, anjiogenezi ve metastazı düzenler (56).

Pekçok solid tümörün (meme, baş-boyun, özefagus, mesane, kolorektal, over, pankreas vb) yüksek oranda EGFR salgıladığı in vivo olarak gösterilmiştir (54,55). Normal hücrelerde, hücre başına EGFR ekspresyonu 40.000-100.000 arasındayken, epitelyal tümörlerde belirgin bir artış göstermektedir. Reseptörler inaktif monomerler şeklinde hücre membranında bulunurken ligand bağlanmasının ardından başka bir EGFR ile ya da EGFR ailesinden başka bir reseptörle dimerize olarak aktive olurlar. Örneğin bazı meme kanserlerinde her bir hücre 2×10^6 EGFR molekülü salgılayabilir. Tartışmalı olmakla birlikte pekçok yayında artmış EGFR sekresyonu kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. EGFR aktivasyonu, tümör hücrelerinin kemoterapi ve radyoterapiye direnç göstermesinde de rol oynamaktadır (22,55,56,58).

Bu tümörlerde EGFR artışına yol açan mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Gen amplifikasyonu uzun yıllar bu artıştan sorumlu tutulmuş ancak son çalışmalarda farklı mekanizmaların rol oynayabileceği görüşü ağırlık kazanmıştır. Glioblastom gibi bazı malignitelerde gen amplifikasyonuna bağlı overekspresyon gösterilmiş olmakla birlikte pekçok neoplazmda bu yol kanıtlanmamıştır (54,55,59).

Kolorektal karsinomlarda EGFR ile ilgili veriler sınırlıdır ve daha çok erken evre vakaları kapsamaktadır (22,58). Bu tümörlerde EGFR overekspresyonu %25-77 arasında olup EGFR'nün hiperproliferasyon ve karsinogenezde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (54). EGFR ve onun çeşitli ligandları (epidermal growth faktör, transforming growth faktör-alfa, heparin-binding epidermal growth faktör) intestinal mukozanın rejenerasyonunu ve büyümesini sağlamaktadır. Bu nedenle, gastrointestinal sistem tümörlerinin oluşması ve ilerlemesiyle ilişkili olabilir (59).

EGFR artışına yönelik optimal immunohistokimyasal skorlama sistemi henüz tanımlanamamıştır (54). Gastrik ve kolorektal karsinomlar ile yumuşak doku sarkomlarında immunhistokimya ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemleri kombine edilerek EGFR overekspresyonu gösterilmiştir (57).

P53 GENİ

İlk defa 1979 yılında Lane ve Crawford, bunların hemen arkasından da Linzer ve Levine tarafından nükleer fosfoprotein olarak tanımlanmıştır. David Lane ise immunohistokimyasal yöntemlerle insan tümörlerinde p53 genini göstermiştir. Tümör süpresör gen olup 17. kromozomun kısa kolunun 13.1 bölgesine lokalizedir. 16.2 kb uzunluğunda olan bu gen 11 eksondan oluşmaktadır. p53 geninin iki tipi vardır. Wild tip p53 normal fonksiyonel tiptir, kısa ömürlü olup (6-20 dakika), dokularda saptanması zordur. 397 aminoasitten meydana gelmektedir. Diğer tip ise mutant tip olup, wild tipten daha uzun ömürlü (3-6 saat) ve immunhistokimyasal olarak dokularda kolayca saptanır (60,61,62).

P53 genindeki değişiklikler insan tümörlerinde en sık rastlanan genetik değişiklikler olma özelliğini taşır (60,61). İlk tanımlandığı yıllarda sadece bir onkogen olarak görev yaptığı düşünülen p53 geninin daha sonraları sadece mutant formunun anormal hücre büyümesinde rol oynadığı, normal p53 geninin ise tümör oluşumunu baskıladığı anlaşılmıştır. Kolon, meme, akciğer, mesane, endometriyum gibi birçok organın epitelyal tümörleri yanı sıra mezenkimal, nöronal ve lenfoid kökenli çeşitli tümörlerde p53 geninin homozigot kaybı saptanmıştır (60,61,62). Yumuşak doku karsinomlarında %30, over kaynaklı tümörlerde %92, akciğer tümörlerinde %50-75, renal karsinomlarda %60, gliomlarda %57 oranında p53 pozitifliği görülmektedir. Tiroid kanseri ve T hücreli lösemilerde p53 gen değişikliği hiç görülmezken, beyin ve endometrial tümörlerde p53 gen mutasyonu daha düşük seviyelerde saptanmıştır (63). Solid tümörlerde p53 gen mutasyonu en sık kolorektal kanserlerde görülmektedir. Kolorektal karsinomlarda p53 gen mutasyonu hastalığın prognozunu yansıtmada önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir (63). İlk olarak Volgelstein, kolorektal kanserlerde 17. kromozomda p53 geninin mutasyona uğradığını göstermiştir (64).

P53 DNA tamirine, büyümenin durmasına ve apoptozise neden olan transkripsiyonel hedef genlerinin, transkripsiyon faktörü gibi multifonksiyonel aktiviteye sahiptir (65). P53' ün bir transkripsiyon faktörü olduğu düşünülür. Çünkü diğer genleri aktive eder ve onların ekspresyonunu yükseltir (66). Sonuçta p53 DNA' daki hasarı bilinmeyen mekanizmalarla hisseder ve DNA'nın tamirinin hücre siklusunun G1 aşamasında bloke edilmesi ve DNA tamir genlerini aktive ederek gerçekleştirir. Yani hücre siklusunu G1 aşamasında durdurur. DNA tamir genlerini aktive eder, böylece yaratılan zamanda meydana gelen hasarın tamirini sağlar ve siklusu kaldığı aşamadan devam ettirir. Zarar görmüş

DNA'sı olan ve bunu tamir edemeyen hücre p53 tarafından apoptoza gönderilir (60,62,65,66).

Normal p53 proteini hücrede genomun koruyuculuğunu yapmakta ve meydana gelen her türlü değişime tepki vermektedir. P53'ün hücrenel biyokimyasal cevapları farklı pek çok mekanizmalar içersede; hücrenin gelişimini ve çoğalmasını düzenleyen mekanizmalardır. Genin mutasyonu, protein fonksiyonunun engellenmesi ya da cevap mekanizmalarının işleyişindeki bozulmalar hücrenin proliferasyonuna yani tümör progresyonuna yol açar. Böylece karsinogenez süreci başlamış olur (60,61).

P53 tümör supressör gen mutasyonları, kolon kanserinde yaygın olarak bulunmaktadır (67). Kolon tümörlerinde tespit edilen p53 gen dönüşümü oranları farklılık göstermektedir, önceki verilere göre kolon kanserinin %75'inde değişim gözlenmiştir, yeni veriler kolon tümörlerinin %40-50 arasında değişim gerçekleştiğini göstermektedir. Kolon tümörlerinde meydana gelen p53 mutasyonlarının %87'si ekson 5-8 arasında dağılmaktadır (68).

Ki-67

İlk kez 1983 yılında Gerdes ve arkadaşları tarafından, hücre siklusuna bağımlı nükleer proliferasyon belirleyicisi olarak tanımlanmıştır ve gastrointestinal mukozadaki boyun hücrelerinde, epidermisin bazal hücrelerinde, kortikal folliküllerin germinal merkez hücreleri gibi proliferatif hücrelerde eksprese edildiği gösterilmiştir (69).

Ki-67, 345 ve 395 kDa ağırlığında iki molekülden oluşan, 10. kromozom üzerine yerleşmiş, nonhiston nükleer bir proteindir. Hücre siklusunun G0 dışında kalan G1, G2, M ve S fazlarında eksprese edilir. Hücre proliferasyonunu gösteren Ki-67 nükleer immunoreaktivitesi ile tümör dokusundaki mitoz sayısı arasında iyi bir korelasyon vardır. Bu antikor yardımıyla belirli bir hücre popülasyonunda büyüme fraksiyonunu tespit etmek mümkündür. Proliferasyon indeksi kabaca tümör evresi ile korelasyon gösterir ve bazı tümörlerin ayrıca tanısında önemlidir. Proliferasyon oranı ile p53 geni anomalileri arasında aynı yönde güçlü bir ilişki bulunduğu ve bunun yanında meme, prostat, kolon, akciğer, karaciğer ve gastrik karsinomlarda, bazı lenfoma ve sarkomalarda olduğu gibi artmış proliferasyon olduğu belirtilmektedir. Tümörlerde Ki-67 ile büyüme fraksiyonlarını göstermenin sadece tanısasal bir önemi yoktur, aynı zamanda birçok kanserde bağımsız bir prognostik değere sahiptir (1,69,70).

KARSİNOEMBRYONİK ANTİJEN

Tümör belirleyicileri arasında en büyük ilgiyi çekmiş olan CEA' ilk kez 1965 yılında Gold ve Friedman tarafından tanımlanmıştır. Gebeliğin ilk altı ayında fetusun bağırsak, karaciğer ve pankreasında bulunur. CEA fetal kolon hücresi yüzey glikoproteinidir. CEA ismi, hem karsinoma hemde embriyonik dokuda bulunduğu için verilmiştir. En yaygın olarak araştırılan ve en sıklıkla kullanılan tümör belirleyicisidir. 160-300 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Müsin ve diğer polisakkaritlerin bir komponenti olan CEA normal mukozal hücre zarında ve kolonik karsinoma hücrelerinin sitoplazmasında bulunmaktadır. Dolaşımdaki CEA'nin konsantrasyonu, CEA üreten hücrelerin sayısına, sentez ve atılım oranına bağlıdır. Normalde mide ve bağırsak epitel membranı içerisinde sentezlenmektedir. CEA ve ilişkili antijenler, normal kolon mukozasında 50-70mg/gün kadar üretilir (71).

CEA'nin tümör tanısı, taraması, tiplendirilmesinde fazla pratik yararı olmamakla birlikte hastalığın izlenmesinde ve rekürrenslerin erken saptanmasında yardımcı olmaktadır (71). Safra kesesi, mesane, meme, kolon, mide, akciğer, pankreas, over, prostat, tiroid ve uterus kanserleri, osteosarkom, nöroblastom gibi malign hastalıklarda, alkolik siroz, benign prostat hipertrofisi, bronşit, divertikülit, Crohn hastalığı, amfizem, gastrik ülser, hepatit, obstrüktif sarılık, pankreatit, renal polip, böbrek hastalıkları ve ülseratif kolit gibi benign hastalıklarda ve sigara içenlerde CEA'nin yüksekliği gösterilmiştir (72).

MATERYAL METOD

Bu çalışmada, 2001-2007 yılları arasında ADÜ Tıp Fakültesi Hastanesinde takip ve tedavi edilen, kolorektal kanser nedeniyle kalın bağırsak rezeksiyonu yapılmış 49 olgu belirlendi. 49 kanserli olgunun 3'ü dosya bilgilerine ulaşılamadığından çalışma dışı bırakıldı. Sonuç olarak 46 kanser olgusu çalışmaya dahil edildi.

Olgulara ilişkin yaş, cinsiyet, operasyon tarihi, tümör lokalizasyonu, lenf nodu metastazı, uzak organ metastazı, adjuvan/neoadjuvan tedavi alıp almadığı, tanı konulduğu zamanda kandaki CEA düzeyi, tam kan sayımı sonuçları, lökosit alt tipleri ve oranları (monosit, nötrofil, lenfosit), yaşam süreleri gibi veriler hastaların izlemleri için kullanılan dosyalardan elde edildi.

Çalışmada her olguda gözden geçirilen faktörler:

- 1. Yaş- cins:** Olgulara ait yaş ve cinsiyet bilgileri izlem dosyalarından elde edildi.
- 2. Operasyon- tanı tarihi:** Operasyon ve tanı tarihi patoloji raporlarından edinildi.
- 3. Tümör lokalizasyonu:** Olgular tümör lokalizasyonuna göre 2 gruba ayrıldılar. Çekum ve transvers kolonda bulunan tümörler sağ kolon, inen ve sigmoid kolonda, rektumda bulunan tümörler sol kolon tümörü olarak adlandırıldı.
- 4. Tam kan sayımı:** Tanı konulduğu andaki tam kan sayımında lökosit değeri $4300-10300/mm^3$ değerleri arası normal, $10300/mm^3$ üzeri artmış olarak, $300-900/mm^3$ arası monosit değeri normal, $900/mm^3$ 'ün üzeri artmış olarak gruplandırıldı.
- 5. Serum CEA düzeyi:** Tanı konulduğu andaki serum CEA düzeyi $0-3,4$ ng/ml değerleri arası normal, $3,4$ ng/ml üzeri artmış olarak değerlendirildi.
- 6. Histolojik grade:** Olgular glandüler yapılarına göre 3 gruba ayrıldı. %95'den fazlasında glandüler yapılanma bulunan tümörler Grade I' i (iyi diferansiye), %50-95'inde glandüler yapılanma bulunan tümörler Grade II (orta derecede diferansiye), %5-50 arasında glandüler yapılanma bulunan tümörler Grade III' (az diferansiye) karsinom olarak belirlendi.
- 7. Evre:** Evrelendirme sisteminde Duke's, TNM ve Astler- Coller sistemleri kullanıldı. Duke's sistemine göre gruplar Duke's A-B-C-D olarak, TNM sistemine göre Evre 0-1-2-3-4 olarak, Astler- Coller sistemine göre ise Astler- Coller A-B1-B2-C1-C2- ve D olarak gruplandırıldı.

8. Lenf bezlerinin durumu: Lenf nodu metastazı var ve yok olarak değerlendirildi.

9. Karaciğer, akciğer, kemik metastazı: Metastaz durumu var ve yok olarak gruplandırıldı.

PATOLOJİK İNCELEME

46 hastanın patoloji preparatları arşivden çıkarılarak tek patolog tarafından yeniden değerlendirildi. Değerlendirmeler sırasında tümöre komşu normal kolon mukozası parafin bloklar ile yeterli tümör yoğunluğu bulunan parafin bloklar immünohistokimyasal incelemede kullanılmak üzere seçildi.

İmmünohistokimyasal Boyama:

1-Poly-L-lysin kaplı lama alınan kesitler bir gece 37°C'lik etüvde bekletildi.

2-30 dk 56°C'lik etüvde bulunan ksilolde, 15 dk oda sıcaklığındaki ksilolde deparafinize edildi.

3-Azalan oranlarda alkol serilerinde rehidrate edildi.

4-Kesitler önceden hazırlanmış olan pH:7.2 olan phosphate-buffered-saline (PBS) solüsyonunda 5 dk bekletildi.

5-Endojen preoksidaz aktivitesinin bloke edilmesi için, kesitlere %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatılarak 5 dk bekletildi.

6-Kesitler 5 dk PBS solüsyonunda yıkandı.

7-Sitrat Buffer (pH:6.0) solüsyon dolu kaplara yerleştirilerek mikrodalga fırında 750 watt'da 5 dk, 500 watt'da 2x5 dk süre ile inkübasyon işlemi yapıldı. Böylece antijenin açığa çıkartılması sağlandı.

8-Kaynatmadan sonra kesitler oda ısısında soğumaya bırakıldı.

9-Kesitler 5 dk PBS solüsyonunda yıkandı ve kurulandı.

10-Her bir kesitin üzerine primer antikor solüsyonu dokuyu tamamen örtecek şekilde damlatıldı ve 1 saat bekletildi.

11-Kesitler 5 dk. PBS solüsyonunda yıkanarak bağlanmamış antikorlar uzaklaştırıldı.

12-Biotine bağlayıcı sekonder antikor eklendi ve 10 dk bekletildi.

13-Kesitler 5 dk PBS solüsyonunda yıkandı ve kurulandı.

14-Kesitlere Streptovidin Peroksidaz solüsyonu damlatılarak 10 dk beklendi.

15-Kesitler 5 dk PBS solüsyonunda yıkandı.

16-Renk verecek görüntüyü sağlamak amacı ile Diaminobenzidin tetraklorid (DAB) damlatıldı ve kahverenk gözlenene kadar beklendi.

17-Çeşme suyunda 5 dk yıkandı.

18-Zemin boyanması için kesitlere hematoksilin ile zıt boyanma yapıldı.

19-Çeşme suyunda 5 dk yıkandı.

20-Dehidratasyon için kesitler sırası ile yükselen oranlarda alkol serilerinden geçirildi ve ksilolde saydamlaştırma sonrası balsam ile kapatıldı.

Primer antikor olarak; **EGFR** (Kod No:AR355 5R, BioGenex,CA,USA), **p53** (Kod No:AM 239 5M, BioGenex,CA,USA), **CEA** (Kod No:AM365 5M, BioGenex,CA,USA), **Mast cell tryptase** (Kod No:AM419 5M, BioGenex,CA,USA), **Ki-67** (Kod No:AM370 5M, BioGenex,CA,USA), **CD-31** (Kod No:AM232 5M, BioGenex,CA,USA), **CD-34** (Kod No:AM236 5M, BioGenex,CA,USA), **VEGF** (Kod No:18-7328, Zymed,CA,USA), kullanıldı.

Tüm preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus BX51,Tokyo, Japan) değerlendirildi.

-CD-34 ve CD-31 antikoruna ile mikrovasküler yoğunluğun değerlendirilmesinde; kesitler 40X ve 100X büyütme ile taranarak, non-tümöral ve peritümöral alanlarda en yoğun vasküler yapının olduğu (hot spot) 3 alanda 400X (40Xx10X) büyütme ile sayım yapıldı. Sayım yapılırken lümen varlığı şartı olmaksızın, pozitif boyanma gösteren hücreler ve hücre kümeleri mikrovasküler yapı olarak değerlendirildi. Eritrosit varlığı damar sayımı için kriter olarak alınmadı. Preparattan elde edilen 3 alandaki mikrovasküler sayı toplamı verildi.

-Mast cell tryptase ile mast hücre sayısı değerlendirilmesinde; kesitler 40X ve 100X büyütme ile taranarak, non-tümöral ve peritümöral alanlarda en yoğun vasküler yapının olduğu (hot spot) 3 alanda 400X (40Xx10X) büyütme ile sayım yapıldı. Preparattan elde edilen 3 alandaki mast hücre sayısı toplamı verildi.

-EGFR, VEGF, p53, CEA, Ki-67 boyanmalarının değerlendirilmesinde; en yoğun boyanma gösteren alanlarda en az 500 hücre sayılarak pozitif boyanma gösteren hücre oranı hesaplandı. Sonuçlar 4 basamaklı skorlama sistemine göre; “0”= %0-5 oranında boyanma, “1”= %6-25 oranında boyanma, “2”=%26-75 oranında boyanma, “3”= %75’den fazla boyanma şeklinde skorlandı.

İstatistiksel Değerlendirme:

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS Windows version 10.0 (SPSS Inc. Chioago, IL) bilgisayar paket programı kullanıldı. Elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma ve yüzde (%) olarak sunuldu. Parametrelerin karşılaştırılmasında ki-kare, Mann-Whitney U testleri kullanılırken, immünhistokimyasal parametreler arası ilişkiyi değerlendirmede Sperman korelasyon analizi kullanıldı. Hastalık progresyonuna etki eden faktörlerin değerlendirilmesi için çok değişkenli cox regresyon analizi ve sağ kalım hızlarının analizi için Kaplan-Meier sağ kalım analizi uygulandı. Anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan 46 hastanın yaşları 33 ile 94 arasında değişmekte idi. Ortalama yaş 64.52 ± 14.42 olarak bulundu. Hastaların 17'si (%37) kadın, 29'u (%63) erkekti. Primer hastalığın kolondaki lokalizasyonu 9 hasta (%19.6) sağ kolon, 37 hasta (%80.4) sol kolon şeklindeydi (Tablo 8).

Tablo 8. Demografik Özellikler.

PARAMETRE	Hasta Sayısı ya da Ortalama	%
YAŞ	64.52 (33-94)	
CİNS (ERKEK/KADIN)	29/17	63/37
SOL KOLON/SAĞ KOLON	37/9	80,4/19,6
CEA DÜZEYİ NORMAL/YÜKSEK	21/25	45,7/54,3
MONOSİT SAYISI NORMAL/YÜKSEK	36/10	78,3/21,7

TNM evrelendirme sistemine göre olguların 7'si (%15.2) Evre I, 12'si (%26.1) Evre II, 11'i (%23.9) Evre III, 16'sı (%34.8) Evre IV idi. Histolojik olarak olguların 10'u (%21.7) iyi differansiyasyon, 31'i (%67.4) orta differansiyasyon, 5'i (%10.9) kötü differansiyasyon olarak izlendi. Olguların 23'ünde (%50.0) lenf nodu metastazı, 7'sinde (%15.2) karaciğer metastazı, 6'sında (%13.0) akciğer, 6'sında (%13.0) kemik metastazı saptandı (Tablo 9).

Tablo 9. Patolojik Özellikler

PARAMETRE	n	%
EVRE TNM I/II/III/IV	7/12/11/16	15.2/26.1/23.9/34.8
EVRE DUKE A/B/C/D	2/16/12/16	4.3/34.8/26.1/34.8
EVRE ASTLER- COLLER B1/B2/C1/C2/D	6/13/2/9/16	13.0/28.3/4.3/19.6/34.8
İYİ/ORTA/KÖTÜ DİFFERANSİYASYON	10/31/5	2.7/67.4/10.9
LENF NODU TUTULUMU (+)	23	50.0
KARACİĞER METASTAZI (+)	7	15.2
AKCİĞER METASTAZI (+)	6	13.0
KEMİK METASTAZI (+)	6	13.0

Olguların takip süresi 0-60 ay arasında değişmektedir ve takip süresi sonunda tüm olguların 35'i (%76.1) halen hayatta iken, 11'i (%23.9) ise ölmüştü. Kaplan-Meier analizinde ise, 5 yıllık sağ kalım hızı %76.1 tespit edildi. Ortalama sağ kalım süresi 46.5 ± 3.47 ay olarak hesaplandı (Tablo 10).

Tablo 10. Sağ kalım

PARAMETRE	n	%
YAŞAYAN	35	76.1
ÖLEN	11	23.9

Mast Hücre Dansitesi:

Normal dokudaki MHD arttıkça kanserli dokudaki MHD'nin arttığı istatistiksel olarak anlamlı olup, olumlu yönde, güçlü düzeyde ilişki tespit edilmiştir (r: 0.550, p: 0.000).

Kanserli dokudaki MHD ile kandaki monosit sayısı arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki MHD arttıkça kandaki monosit sayısının azaldığı istatistiksel olarak anlamlı olup, olumsuz yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: -0.301, p: 0.042) (Tablo 11).

Tablo 11. Kanserli dokudaki MHD ile kandaki monosit sayısı arasındaki ilişki

SERUM MONOSİT SAYISI

	Monosit sayısı normal	Monosit sayısı artmış	p
Kanserli dokudaki MHD	11.25 ± 4.78	7.60 ± 3.77	0.042

Normal dokudaki MHD ile kanserli dokuda VEGF ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında normal dokudaki MHD arttıkça kanserli dokudaki VEGF ekspresyonunun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.310, p: 0.036) (Tablo 12).

Kanserli dokuda MHD ile VEGF ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki MHD arttıkça VEGF ekspresyonunun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.355, p: 0.015) (Tablo 12).

Tablo 12. Normal ve kanserli dokudaki MHD ile kanserli dokuda VEGF ekspresyonu arasındaki ilişki

VEGF KANSERLİ DOKU

	< 25'den az BOYANMA	26-75 BOYANMA	75 üzeri BOYANMA	p
NORMAL DOKU MHD ORTALAMA ± SD	3.710 ± 1.94	4.500 ± 2.65	5.800 ± 2.04	0.036
KANSERLİ DOKU MHD ORTALAMA ± SD	4.021 ± 3.26	9.820 ± 5.41	13.90 ± 3.70	0.015

Kanserli dokudaki MHD ile kandaki CEA düzeyi arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki MHD arttıkça kandaki CEA düzeyinin arttığı istatistiksel olarak anlamlı olup, olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.456, p: 0.001) (Tablo 13).

Tablo 13. Kanserli dokudaki MHD ile serum CEA düzeyi arasındaki ilişki

SERUM CEA DÜZEYİ

	CEA düzeyi normal	CEA düzeyi artmış	p
Kanserli Doku MHD	.095 ± 2.80	2.44 ± 5.24	0.001

Normal ve kanserli dokuda MHD ile survi karşılaştırıldığında MHD'si yüksek olan tümörlerde MHD'si daha az olan tümörlere göre ölüm oranı daha fazla gözlendi fakat bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla p: 0.877, p: 0.796).

Mikrodamar Yoğunluğu:

Normal dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY ile CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'u arasındaki ilişkiye bakıldığında, CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde güçlü düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.716, p: 0.000).

Kanserli dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY ile CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasındaki ilişkiye bakıldığında, CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde güçlü düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.678, p: 0.000).

Normal dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça kanserli dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde çok güçlü düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.819, p: 0.000). Normal dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça kanserli dokuda MHD'nin arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.331, p: 0.025).

Normal dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça kanserli dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde güçlü düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.720, p: 0.000). Normal dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça kanserli dokuda MHD'nin arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.347, p: 0.018).

Normal dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça MHD'nin arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde güçlü düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.619, p: 0.000). Normal dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça normal dokudaki MHD'nin arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde güçlü düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.506, p: 0.000).

Kanserli dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça MHD'nin arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde güçlü düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.551, p: 0.000). Kanserli dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça kandaki CEA düzeyinin arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.359, p: 0.014).

Kanserli dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça MHD'nin arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde güçlü düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.569, p: 0.000). Kanserli dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça kandaki CEA düzeyinin arttığı

istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.387, p: 0.008).

Normal dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttıkça kandaki CEA düzeyinin arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.323, p: 0.029).

Normal dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY ile lenf nodu metastazı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı, fark saptanmıştır (MWU: 152.000, p: 0.013) (Tablo 14).

Tablo 14. Normal dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY ile lenf nodu metastazı arasındaki ilişki

PARAMETRE	Lenf Nodu Metastazı (-)	Lenf Nodu Metastazı (+)	p
Normal dokuda CD-31 ile MDY Ortalama ± SD	2.068 ± 0.882	2.808 ± 1.023	0.013

Normal ve kanserli dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY ile karaciğer metastazı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı, fark saptanmıştır (sırasıyla MWU: 70.500, p: 0.042, MWU:60.500, p:0.018) (Tablo 15).

Tablo 15. Normal ve Kanserli dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY ile karaciğer metastazı arasındaki ilişki

PARAMETRE	Karaciğer Metastazı (-)	Karaciğer Metastazı (+)	p
Normal dokuda CD-31 ile MDY Ortalama ± SD	2.295± 0.932	3.234 ± 1.166	0.042
Kanserli dokuda CD-31 ile MDY Ortalama ± SD	5.005 ± 2.193	7.710 ± 2.584	0.018

Normal ve kanserli dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyaması ile tespit edilen MDY ile survi karşılaştırıldığında damarlardan zengin tümörlerde ölüm oranı, damarlanması daha az olan tümörlere göre daha yüksek oranda belirlendi fakat bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla p: 0.407, p: 0.631).

Normal ve kanserli dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyaması ile tespit edilen MDY ile survi karşılaştırıldığında damarlardan zengin tümörlerde ölüm oranı, damarlanması daha az olan tümörlere göre daha yüksek oranda belirlendi fakat bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla p: 0.409, p: 0.374).

VEGF İmmunreaktivitesi:

VEGF immunreaktivitesi açısından incelendiğinde, normal dokuda olguların 6'sında (%13.0) %0-5 arası VEGF boyanma gözlenirken, 38 (%82.6) olguda %6-25 arası boyanma, 2 (%4.3) olguda %26-75 arası boyanma, tespit edilmiştir. Kanserli dokuda olguların 1'inde (%2.2) %0-5 arası VEGF ile boyanma gözlenirken, 13 (%28.3) olguda %6-25 arası boyanma, 22 (%47.8) olguda %26-75 arası boyanma, 10 (%21.7) olguda %75'den fazla boyanma tespit edilmiştir. Normal dokuda VEGF ekspresyonu arttıkça kanserli dokudaki VEGF ekspresyonunun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup, olumlu, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.357, p: 0.015) (Tablo 16).

Tablo 16. Normal ve Kanserli Dokuda VEGF İmmunreaktivitesi

PARAMETRE	%0-5 BOYANMA n (%)	%6-25 BOYANMA n (%)	%26-75 BOYANMA n (%)	%75 üzeri BOYANMA n (%)
NORMAL DOKUDA VEGF	6 (13.0)	38 (82.6)	2 (4.3)	
KANSERLİ DOKUDA VEGF	1 (2.2)	13 (28.3)	22 (47.8)	10 (21.7)

Kanserli dokuda VEGF ekspresyonu ile normal dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki VEGF ekspresyonu arttıkça normal dokudaki CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup, olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.324, p: 0.028) (Tablo 17).

Kanserli dokuda VEGF ekspresyonu ile CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki VEGF ekspresyonu arttıkça CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.434, p: 0.003) (Tablo 17).

Tablo 17 Kanserli dokuda VEGF ekspresyonu ile normal ve kanserli dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasındaki ilişki

VEGF KANSERLİ DOKU

	%< 25'den az Boyanma	%26-75 Boyanma	%75 üzeri Boyanma	p
Normal dokuda CD-31 ile MDY Ortalama ± SD	2.021± 0.975	2.496± 1.001	2.895± 0.970	0.028
Kanserli dokuda CD-31 ile MDY Ortalama ± SD	4.021± 1.918	5.784± 2.795	6.564 ± 2.221	0.003

Kanserli dokuda VEGF ekspresyonu ile normal dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki VEGF ekspresyonu arttıkça normal dokudaki CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.424, p: 0.003) (Tablo 18).

Kanserli dokuda VEGF ekspresyonu ile CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki VEGF ekspresyonu arttıkça CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde, güçlü düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.528, p: 0.000) (Tablo 18).

Tablo 18. Kanserli dokuda VEGF ekspresyonu ile normal ve kanserli CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasındaki ilişki

VEGF KANSERLİ DOKU

	%< 25'den az Boyanma	%26-75 Boyanma	%75 üzeri Boyanma	p
Normal dokuda CD-34 ile MDY Ortalama ± SD	2.617± 0.985	3.361± 3.495	4.030 ± 1.299	0.003
Kanserli dokuda CD-34 ile MDY Ortalama ± SD	4.830± 2.649	7.753± 3.326	10.130 ± 3.608	0.000

Kanserli dokuda VEGF ekspresyonu ile CEA ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki VEGF ekspresyonu arttıkça CEA ekspresyonunun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.328, p: 0.026).

VEGF için yapılan survi analizinde kanserli dokuda %25 ve altında immunpozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresi 55.8±3.98 ay iken %75'den fazla immunpozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresinin 33.8±7.71 ay olduğu gözlemlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı (p: 0.040).

EGFR İmmunreaktivitesi:

EGFR immünreaktivitesi açısından incelendiğinde, normal dokuda olguların 1'inde (%2.2) %0-5 arası EGFR boyanma gözlenirken, 13 (%28.3) olguda %6-25 arası boyanma, 24 (%52.2) olguda %26-75 arası boyanma, 8 (%17.4) olguda %75'den fazla boyanma tespit edilmiştir. Kanserli dokuda olguların 10'da (%21.7) %6-25 arası EGFR boyanma gözlenirken, 22 (%47.8) olguda %26-75 arası boyanma, 14 (%30.4) olguda %75'den fazla boyanma tespit edilmiştir. Normal dokuda EGFR ekspresyonu arttıkça

kanserli dokudaki EGFR ekspresyonunun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup, olumlu, güçlü bir ilişki gözlenmiştir (r: 0.615, p: 0.000) (Tablo 19).

Tablo 19. Normal ve Kanserli Dokuda EGFR İmmunreaktivitesi

PARAMETRE	%0 BOYANMA n (%)	%6-25 BOYANMA n (%)	%26-75 BOYANMA n (%)	%75'üzeri BOYANMA n (%)
NORMAL DOKUDA EGFR	1 (2.2)	13 (28.3)	24 (52.2)	8 (17.4)
KANSERLİ DOKUDA EGFR		10 (21.7)	22 (47.8)	14 (30.4)

Kanserli dokuda EGFR ve P53 ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki EGFR ekspresyonu arttıkça P53 ekspresyonunda arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup, olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.335, p: 0.023).

EGFR için yapılan survi analizinde kanserli dokuda %6-25 oranında immunpozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresi 56.5±3.03 ay iken %75'den fazla immunpozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresinin 44.0±5.99 ay olduğu gözlemlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı (p: 0.305).

P53 İmmunreaktivitesi:

Kanserli dokuda olguların 9'da (%19.6) %0-5 arası p53 boyanma gözlenirken, 16 (%34.8) olguda %6-25 arası boyanma, 12 (%26.1) olguda %26-75 arası boyanma, 9 (%19.6) olguda %75'den fazla boyanma tespit edilmiştir (Tablo 20).

Tablo 20. Kanserli Dokuda P53 İmmunreaktivitesi

PARAMETRE	%0-5 BOYANMA n (%)	%6-25 BOYANMA n (%)	%26-75 BOYANMA n (%)	%75'üzeri BOYANMA n (%)
KANSERLİ DOKUDA p53	9 (19.6)	16 (34.8)	12 (26.1)	9 (19.6)

Kanserli dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyaması ile tespit edilen MDY ile p53 ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki p53 ekspresyonu arttıkça CD-34 immunohistokimyasal boyaması ile tespit edilen MDY'nunda arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0,309, p: 0.036).

P53 için yapılan survi analizinde kanserli dokuda %0-5 oranında immunpozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresi 51.6 ± 5.97 ay iken %75'den fazla immunpozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresinin 18.1 ± 4.27 ay olduğu gözlemlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı (p: 0.077) ancak p53 immunpozitiflik oranı artan hastalarda ortalama sağ kalım sürelerinin daha kısa olduğu gözlemlendi.

Ki-67 İmmunreaktivitesi:

Kanserli dokuda Ki-67 immunreaktivitesi incelendiğinde, kanserli dokuda olguların 9'da (%19.6) %6-25 arası EGFR boyanma gözlenirken, 29 (%63.0) olguda %26-75 arası boyanma, 8 (%17.4) olguda %75'den fazla boyanma tespit edilmiştir (Tablo 21).

Tablo 21. Kanserli Dokuda Ki-67 İmmunreaktivitesi

PARAMETRE	%6-25 BOYANMA n (%)	%26-75 BOYANMA n (%)	%75 üzeri BOYANMA n (%)
KANSERLİ DOKUDA Ki-67	9 (19.6)	29 (63.0)	8 (17.4)

Kanserli dokuda Ki-67 immunpozitifliği ile karaciğer, akciğer ve kemik metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardır (sırasıyla p: 0.008, p: 0.002, p: 0.002). Karaciğer metastaz varlığı Ki-67 boyanma yüzdesi %6-25 olan 9 (%19.6) olgudan hiç birinde gözlenmezken, %75'den fazla boyanma görülen 8 (%17.4) olgudan 4'ünde (%50) karaciğer metastazı saptanmıştır. Ki-67 boyanma yüzdesi %6-25 olan 9 (%19.6) olgudan 1'inde (%11.1), akciğer metastazı varlığı gözlenirken %75'den fazla boyanma görülen 8 olgudan 4'ünde akciğer metastazı saptanmıştır. Kemik metastaz varlığı Ki-67 boyanma

yüzdesi %6-25 olan 9 olgudan 1'inde (%11.1) saptanırken, boyanma yüzdesi %75'den fazla olan 8 olgudan 4'ünde kemik metastazı saptanmıştır (Tablo 22).

Tablo 22. Kanserli Dokuda Ki-67 İmmunreaktivitesi ile karaciğer, akciğer ve kemik metastazı arasındaki ilişki

PARAMETRE	Ki-67 %6-25 immünpozitiflik n (%): 9	Ki-67 %75'den fazla immünpozitiflik n(%): 8
Karaciğer metastazı (+)	-	4(%50.0)
Karaciğer metastazı (-)	9(%100.0)	4(%50.0)
Akciğer metastazı (+)	1(%11.1)	4(%50.0)
Akciğer metastazı (-)	8(%88.9)	4(%50.0)
Kemik metastazı (+)	1(%11.1)	4(%50.0)
Kemik metastazı (-)	8(%88.9)	4(%50.0)

Kanserli dokuda Ki-67 ekspresyonu ile CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki Ki-67 ekspresyonu arttıkça CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.414, p: 0.004).

Ki-67 için yapılan survi analizinde kanserli dokuda %26-75 oranında immünpozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresi 43.4±3.98 ay iken %75'den fazla immünpozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresinin 28.9±9.14 ay olduğu gözlemlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı (p: 0.121) ancak Ki-67

immünpozitiflik oranı artan hastalarda ortalama sağ kalım sürelerinin daha kısa olduğu gözlemlendi.

CEA İmmünreaktivitesi:

CEA ile boyanma normal dokuda olguların 4'ünde (%8.7) %0-5 arası boyanma gözlenirken, 22 (%47.8) olguda %6-25 arası boyanma, 18 (%39.1) olguda %26-75 arası boyanma, 2 (%4.3) olguda %75'den fazla boyanma tespit edilmiştir. Kanserli dokuda olguların 5'inde (%10.9) %0-5 arası CEA boyanma gözlenirken, 8 (%17.4) olguda %6-25 arası boyanma, 23 (%50) olguda %26-75 arası boyanma, 10 (%21.7) olguda %75'den fazla boyanma tespit edilmiştir. Normal dokudaki CEA ekspresyonu arttıkça, kanserli dokudaki CEA ekspresyonunun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup, olumlu, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.425, p: 0.003) (Tablo 23).

Tablo 23. Normal ve Kanserli Dokuda CEA İmmünreaktivitesi

PARAMETRE	%0-5 BOYANMA n (%)	%6-25 BOYANMA n (%)	%26-75 BOYANMA n (%)	%75 üzeri BOYANMA n (%)
NORMAL DOKUDA CEA	4 (8.7)	22 (47.8)	18 (39.1)	2 (4.3)
KANSERLİ DOKUDA CEA	5 (10.9)	8 (17.4)	23 (50.0)	10 (21.7)

Kanserli dokuda CEA ekspresyonu ile kanserli dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki CEA ekspresyonu arttıkça kanserli dokudaki CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.460, p: 0.001).

Kanserli dokuda CEA ekspresyonu ile kanserli dokuda CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasındaki ilişkiye bakıldığında kanserli dokudaki CEA ekspresyonu arttıkça kanserli dokudaki CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmış olup olumlu yönde, orta düzeyde ilişki gözlenmiştir (r: 0.414, p: 0.004).

CEA için yapılan survi analizinde kanserli dokuda %0-5 oranında immunpozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresi 48.2 ± 10.1 ay iken %75'den fazla immunpozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresinin 37.9 ± 8.7 ay olduğu gözlemlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı (p: 0.55) ancak CEA immunpozitiflik oranı artan hastalarda ortalama sağ kalım sürelerinin daha kısa olduğu gözlemlendi.

TARTIŞMA

Kansere bağlı ölümlerde erkeklerde ikinci bayanlarda üçüncü sırada yer almaları ve sosyoekonomik düzeyi yüksek toplumlarda daha sık izlenmeleri, kolorektal kanserler ile ilgili çalışmaların önemini ve sayısını arttırmıştır(3). Bu araştırmalar içinde en çok çalışılan konulardan biri, prognozu belirleyecek ve tedaviye dirençli tümörleri orataya çıkaracak yeni parametrelerin saptanmasıdır (6,21).

Kolorektal kanserde prognostik faktörler 4 alt grupta toplanmıştır (21). Buna göre:

1) Çok sayıda çalışma ile klinik sonuçları kanıtlanmış prognostik faktörler: Lokal yayılım, bölgesel lenf nodu metastazı, damar ya da lenfotik invazyon, rezidüel tümör varlığı, preoperatif CEA seviyeleri

2A) Pekçok çalışma ile prognoz üzerine etkisi gösterilmiş ancak üzerinde çalışmaların devam ettiği prognostik faktörler: Histolojik grade, radikal cerrahi sınır

2B) Çok sayıdaki çalışmada umut verici sonuçlar alınan fakat yeterli kesin kanıt bulunamayan prognostik faktörler: Histolojik tip, tümör yayılım paterni

3) Henüz yeterli sayıda çalışma yapılmamış prognostik faktörler: DNA içeriği, diğer moleküler genetik markerlar, perinöral invazyon, mikrodamar yoğunluğu, diğer protein sekresyonları, peritümöral desmoplazi peritümöral inflamatuvar reaksiyon, nöroendokrin diferansiyasyon alanı varlığı, proliferasyon indeksi

4) Yeterince çalışma ile prognostik önemi olmadığı gösterilmiş faktörler: Tümör boyutu, büyüme paterni

Bununla birlikte kolorektal kanserlerde patolojik evre en önemli prognostik göstergedir (1,2,6,12,18,19,21).

Klasik tedavi yöntemi cerrahi rezeksiyondur. İleri evre hastalıkta kemoterapi kullanımı yaygındır. Adjuvan kemoterapi, bölgesel lenf nodu metastazı olan vakalarda da kullanılmakla birlikte lokalize hastalıkta kullanımı tartışmalıdır. Erken evre kolon kanserlerinin %20-30'unda lokal ya da uzak nüks görülür (1,21,22).

Adjuvan tedaviden faydalanabilecek, yüksek rekürrens riski olan hastaların belirlenmesinde kullanılabilir yeni prognostik göstergelere yönelik araştırmalar devam etmektedir (1,22). Bu nedenle geliştirilen hücre siklus regülasyonu, apoptoz ve neovaskülarizasyonda önemli bir rol oynayan moleküler belirleyiciler, erken evre kolon karsinomlarının optimal tedavisini belirlemede dikkate alınmalıdır. Bu amaçla EGFR, VEGF, siklooksijenaz 2 ve matriks metalloproteinaz inhibisyonu sağlayacak kemoteropatik ajanlar üzerinde çalışılmaktadır (21).

Bu çalışmada kolorektal kanser olgularında yaş, cinsiyet gibi demografik ve klinik verilerin, histopatolojik bulguların değerlendirilmesinin yanısıra kolorektal kanserlerde prognozun saptanmasında önemli yararı olduğu öne sürülen MHD, tümör süpressör gen p53'ün, Ki-67, CEA'nin, EGFR'ün, VEGF'ün immunreaktivitesi ve tümör içi yeni damar oluşumunu göstermede yardımcı olan CD-31 ve CD-34'ün ilişkilerini araştırdık.

Hans ve arkadaşlarının kolorektal kanserli 584 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, tümör dokusunda düşük MHD'ne sahip grupta Duke's evresinden bağımsız olarak daha iyi prognoz gözlemişlerdir (73).

Ying-An ve arkadaşlarının gastrik karsinoma tanısı alan 421 hasta grubunda yaptıkları çalışmada, 1-6 lenf nodu metastazı olan grupta MHD'ni 12 ± 3.11 , lenf nodu metastazı 7-15 olan vaka grubunda MHD'ni 6 ± 2.06 , 15'den fazla lenf nodu metastazı olan grupta ise MHD'ni 5 ± 1.33 saptamışlardır. Çalışma sonucunda yüksek MHD'nin gastrik karsinom tanılı hastalarda daha az oranda lenf nodu metastazı anlamına geldiğini ve MHD'nin bu hastalarda prognozu değerlendirmede değerli bir parametre olabileceğini saptamışlardır (74).

Shi-Yu ve arkadaşlarının kolorektal kanser tanılı vakalarda yaptıkları çalışmada, mast hücre sayısı ile tümör ilişkili makrofaj sayıları arasında belirgin pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Yüksek mast hücre sayısı ile tümör ilişkili makrofaj sayısına sahip olan grupta daha düşük oranda lenf nodu metastazı, uzak organ metastazı görüldüğü ve daha yüksek oranda 5 yıllık surviyin gözlendiğini bildirmişlerdir (75).

Bizim çalışmamızda kanserli dokudaki MHD arttıkça kandaki monosit sayısının azaldığını istatistiksel olarak anlamlı saptadık. Normal ve kanserli dokuda MHD yüksek olan tümörlerde MHD daha az olan tümörlere göre ölüm oranı daha fazla gözlendi.

Anjiogenez, tümör büyümesi ve metastazları için temel oluşturmaktadır ve bazı kanserlerde tümörün invazyon özelliği için belirteç olarak önerilmektedir. Histolojik

kesitlerin endotelial antijenler kullanılarak boyanması ile elde edilen MDY anjiogenezin sayısal ölçümüdür. Anjiogenezin değerlendirilmesinde vWf, CD-24, CD-31, CD-34, CD-105 gibi farklı antijenler kullanılmaktadır (43). Çalışmamızda anjiogenezin seviyesinin MDY ölçümü yoluyla gösteren CD-31 ve CD-34 antijeni varlığı, immunhistokimya yöntemiyle araştırılmıştır.

Bizim çalışmamızda doku seçimi ve uygulanan stratejide hem primer tümör dokusunda, hem de rezeke edilen tümör spesimeninin çevresindeki mikroskopik olarak malignite saptanmayan normal dokuda MDY ölçümü yapılmıştır. CD-31 ve CD-34 immunhistokimyasal boyama ile tespit ettiğimiz MDY'nun primer tümör dokusunda ölçümüyle, tümör çevresindeki normal dokuda ölçümü arasında anlamlı korelasyon saptandı.

Açıklım ve arkadaşlarının kolorektal kanserli 60 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, ortalama CD-34 ile gösterilen MDY'nun ve MHD'nin rekürrens hasta grubunda, en az 24 ay hastalısız yaşam süresine sahip hasta grubundan daha yüksek olduğunu saptamışlardır. MHD ile MDY arasında korelasyon olduğunu belirtmişlerdir. Artmış mikrodamar (>28) ve mast hücre (>6) sayısının kısa hastalısız yaşam süresi ile korele olduğunu ve MDY'nun tümör rekürrensi ve rekürrens zamanını göstermede önemli bir prognostik faktör olabileceğini göstermişlerdir (76).

Lackner ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, vWf ile gösterilen MDY'nun kolorektal kanserli hastalar için bağımsız bir prognostik marker olarak değerlendirilebileceğini ve kötü prognozu tanımlamaya yardımcı olabileceğini belirtmişlerdir (77).

Liang ve arkadaşlarının evre III kolorektal kanserli 114 vakada yaptıkları çalışmada, CD-34 immunohistokimyasal boyaması ile tespit edilen MDY'nun tümör hücrelerinin vasküler invazyonuyla ilişkili olduğunu bununda ötesinde MDY'nun saptanmasının tümör rekürrensini tahmin etmede prognostik faktör olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (78).

Shu ve arkadaşları 97 kolorektal kanser hasta grubunda yaptıkları çalışmada, CD-34 ile gösterilen MDY ile yaş, cinsiyet, tümör evresi arasında korelasyon olmadığını belirtirken, histolojik differansiyasyon ile korele saptamışlardır. Aynı çalışmada MDY'nun prognostik değerini göstermişlerdir (79).

Sternfeld ve arkadaşlarının 146 kolorektal kanser tanılı vaka grubunda yaptıkları çalışmada, CD-31 ile gösterilen MDY'nun tümör rekkürrensi olan hasta alt grubunda survey oranı için bağımsız bir prognostik gösterge olduğunu bildirmişlerdir (80).

Bu çalışmaların aksine John ve arkadaşlarının Evre III-IV olarak histolojik tanı almış 44 over kanserli hasta grubunda yaptıkları çalışmada, CD-34 immunhistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY yüksek olan (>11) ve peritümöral mast hücre infiltrasyonu artmış olan grupta ortalama survi 80.3 ay olarak gözlerlerken, MDY'nu (≤ 11) ve peritümöral mast hücre infiltrasyonunu düşük saptadıkları grupta ortama surviyin 30.8 ay olduğunu belirtmişlerdir. Yüksek MDY'nun ve artmış peritümöral mast hücre infiltrasyonunun over kanserinde iyileşmiş surviyi gösterdiğini bildirmişlerdir (81).

Tuna ve arkadaşlarının renal hücreli karsinom tanılı hasta grubunda yaptıkları çalışmada, MHD'ni CD-31 ile gösterilen MDY ile korele saptarlarken, tümör boyutu, evresi ve survi gibi çeşitli klinopatolojik özellikler ile korele saptamamışlardır. Bu hasta grubunda peritümöral alanlardaki mast hücre sayısının normal böbrek dokusuna göre daha yüksek olduğunu gözlemişlerdir (82).

Tomita ve arkadaşlarının özofagus squamoz karsinom tanılı 48 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, tümör anjiogenezin artımında mast hücre sayısının rolü olduğunu ve MHD ile Faktör VIII ile gösterilen MDY arasında direkt bir ilişki olduğunu saptamışlardır (83).

Perrone ve arkadaşları; kolon kanseri içeren 57 vakalık çalışmalarında; VEGF (-) tümörlerde vWf ile gösterilen MDY'nun VEGF (+) tümörlere göre daha düşük olduğunu bildirdiler. VEGF ekspresyonu (-) olan grupta MDY ortalamasını 61.0 saptarken, VEGF ekspresyonu (+1) olan grupta ise MDY ortalamasını 113.0 saptamışlardır (84).

Shu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, VEGF ekspresyonunu MDY ile korele saptamışlardır. VEGF (+) tümörlerde CD-34 ile gösterilen MDY'nun, VEGF (-) tümörlere göre daha yüksek olduğunu bildirdiler. Aynı çalışmada MDY'nun prognostik değerini belirtirken, VEGF' un bağımsız bir prognostik faktör olmadığını göstermişlerdir (85).

Yutaka ve arkadaşlarının 93 vakalık serilerinde VEGF ekspresyonu (+3) olan grupta faktör VIII ile gösterilen MDY'nun, VEGF ekspresyonu (+1) olan gruba göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (86).

Tataroğlu ve arkadaşlarının; kolorektal kanseri içeren 75 vakalık çalışmalarında, peritümöral stromada CD-31 immunhistokimyasal boyama ile tespit ettikleri MDY ile

prognostik parametrelerden invazyon derinliği ve lenf nodu metastazı durumu arasında anlamlı ilişki saptamamışlardır (87).

Bizim alışmamızda normal ve kanserli dokuda CD-34 ve CD-31 immunohistokimyasal boyaması ile tespit edilen MDY ile survi karşılaştırıldığında damarlardan zengin tümörlerde ölüm oranı, damarlanması daha az olan tümörlere göre daha yüksek oranda belirledik fakat bunu istatistiksel olarak anlamlı saptamadık. Hem primer tümör dokusunda, hem de rezeke edilen tümör spesimeninin çevresindeki mikroskopik olarak malignite saptanmayan normal dokuda CD-34 ve CD-31 immunohistokimyasal boyaması ile tespit edilen MDY arttıka aynı dokulardaki MHD'nin arttığını gözlemledik. Çalışmamızda primer tümör dokusundaki VEGF ekspresyonu arttıka, rezeke edilen tümör spesimeninin çevresindeki mikroskopik olarak malignite saptanmayan normal dokudaki CD-31 ve CD-34 ile gösterilen MDY'nun ve MHD'nin arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Buna benzer şekilde primer tümör dokusundaki VEGF ekspresyonu ile tümör dokusundaki MDY ve MHD arasındaki ilişkiye baktığımızda; VEGF ekspresyonu arttıka CD-31 ve CD-34 ile gösterilen MDY'nun aynı zamanda MHD'nin arttığını istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptadık. Çalışmamızda tümör mikro çevresindeki normal dokuda CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY ile lenf nodu metastazı ve karaciğer metastazı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı, fark saptanmıştır. Tümör dokusundaki CD-31 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY ile karaciğer metastazı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı, fark saptanırken, lenf nodu metastazı arasında anlamlı fark yoktu.

Anjiogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulanı VEGF'dr. VEGF birçok insan tümöründe gösterilmiş ve tümör anjiyogenezisinde önemli rolü olduğu belirlenmiştir. VEGF; bir parakrin faktör olarak birçok tümörde neovaskularizasyondan sorumludur (47).

Literatürde kolorektal kanserlerde anjiogenezin prognozla ilişkisi üzerinde henüz görüş birliğine varılamamıştır. Bu konu üzerinde anjiogenezin prognozu olumlu yönde veya olumsuz yönde etkilediğini bildiren çalışmalar vardır (88). Ayrıca anjiogenezin tümör boyutuyla, tümörün evresiyle metastaz oluşumuyla ilgili olabileceğini ancak prognoza yönelik Dukes' sınıflamasından daha fazla bilgi vermediği görüşü de ortaya atılmıştır (89). Buna karşın Khorana ve arkadaşları 131 olguluk kolorektal karsinom ile ilgili çalışmalarında

metastaz patogenezinde anjiogenezin neden olan bir faktör olmadığını, VEGF ekspresyonu ile survi arasında ilişki olmadığını belirtmişlerdir (22).

Döger ve arkadaşlarının kolon kanserini içeren 60 vakalık çalışmalarında, VEGF boyanma yoğunluğunu; TNM evresi, tümör differensiasyonu, vasküler invazyon, lenfatik yayılım ve uzak metastazlarla korele saptarken, survi ile korele saptamamışlardır. Ortalama surviyin VEGF negatif grupta 27.5 ± 14.7 ay, düşük VEGF ekspresyonu olan grupta 29.3 ± 12.8 ay, yüksek VEGF ekspresyonu olan grupta ise 14.5 ± 14.2 ay olduğunu belirtmişlerdir (90).

Durak ve arkadaşlarının Astler-Coller Evre A-B olarak histolojik tanı almış 41 kolorektal kanserli hasta grubunda yaptıkları çalışmada, VEGF ekspresyonu ile tümör derecesi, tümör derinliği, anjio-nöral lenfatik invazyon, lokal nüks, uzak metastaz ve yaşam süresi arasında ilişki olmadığını bildirmişlerdir (91).

Alok ve arkadaşlarının evre II ve evre III kolon karsinomlu 131 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, tümör dokusundaki VEGF ekspresyonu ile surviy arasında belirgin ilişki olmadığını saptamışlardır (92).

Yapılan bu çalışmalara karşıt olarak Lee ve arkadaşlarının kolorektal karsinomlu 145 hasta grubunda yaptıkları çalışmada, VEGF ekspresyonu ile kolorektal kanser prognozunun pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. VEGF ekspresyonu (-) grupta ortalama surviyi 53.1 ay saptarken, VEGF ekspresyonu (+3) grupta ortalama surviyin 37.0 ay olduğunu belirtmişlerdir (89). Cascinu ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada, evre II kolorektal kanserli vakalarda VEGF ekspresyonunu hastalık rekürrensi için artmış riskle ilişkili saptamışlardır (93).

Bizim çalışmamızda VEGF hem primer tümör dokusunda, hem de rezeke edilen tümör spesimeninin çevresindeki mikroskopik olarak malignite saptanmayan normal dokuda çalışıldı. VEGF' ün primer tümör dokusunda ekspresyonuyla, tümör çevresindeki normal dokuda ekspresyonu arasında anlamlı korelasyon saptandı. Bu konuda literatürde herhangi bir yayın bulunamadı. Bizim çalışmamızda VEGF %25 ve altında immunpozitiflik gözlenen tümörlerde ortalama sağ kalım süresi 55.8 ay, %75'den fazla immunpozitiflik gözlenen tümörlerde ise 33.8 ay olarak saptandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

EGFR; hücrel farklılaşmayı, proliferasyonu ve anjiogenezi düzenlediği için tümör oluşumunda önemli bir reseptördür. EGFR'nin aşırı salgılanması pekçok solid tümörde kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (22).

EGFR kolonda hiperproliferasyon ve karsinogenezde önemli bir rol oynar. Bununla birlikte prognostik önemini anlamaya yönelik çalışmalar yeterli değildir (22,58). İmmunhistokimya ile yapılmış diğer organ tümörlerini içeren çalışmalarda, artmış EGFR ekspresyonunun mesane tümörlerinde invazyon, meme ve özefagus kanserlerinde kötü prognoz, akciğer küçük hücreli dışı karsinomlarında diferansiyasyon azlığı, yüksek büyüme hızı ve yüksek metastatik oran ile ilişkisi gösterilmiştir (59).

Bizim çalışmamızda EGFR hem primer tümör dokusunda, hem de rezeke edilen tümör spesimeninin çevresindeki mikroskopik olarak malignite saptanmayan normal dokuda çalışıldı. Kolorektal kanser olgularının tümör çevresindeki normal dokuda EGFR ekspresyonu karakterinin normal olan kolon epitelinden daha çok malign dokuyla benzerlik göstereceğini düşündük. Bu düşüncemizi kolorektal kanser olgularında maligniteden kaynaklanan farklı sitokin ağı nedeniyle yakın çevredeki dokunun biyolojisinin değişmiş olma ihtimali varsayımından oluşturmuştuk. Gerçekten de EGFR'ünün primer tümör dokusunda ekspresyonuyla, tümör çevresindeki normal dokuda ekspresyonu arasında anlamlı korelasyon saptandı. Bu konuda literatürde herhangi bir yayına rastlamadık.

Literatürde EGFR ekspresyonuyla sağkalımdaki azalmanın, yani kötü prognoz, ilişkili olduğuna dair çok sayıda çalışma mevcuttur (94). Buna karşılık EGFR ekspresyonuyla sağ kalım süresi ve hastalıksız sağkalım süresi arasında ilişki saptanmamış çalışmalar da mevcuttur (95,96). EGFR ekspresyonuyla prognoz arasında ilişki saptanmayan çalışmaların, EGFR tespit yöntemlerinden (immunohistokimyadan) kaynaklanan sorunlar nedeniyle bu sonuca varmış olma ihtimali yüksektir.

Gennaro ve arkadaşlarının kolon kanserli 149 hasta grubunda yaptıkları çalışmada, kolon kanserli hastaların 1/3'ünde EGFR ekspresyonu tespit etmişler: EGFR ekspresyonunu hastalık rekürrensi, kötü surveyle ilişkili saptamışlar ve moleküler hedefli tedavilerde antiEGFR ajanlarının EGFR (+) kolon kanserli hastalarda adjuvan tedavi olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (97).

Murray ve arkadaşlarının TNM evre II kolon kanserini içeren 134 vakalık çalışmalarında p53 ve EGFR ekspresyonunun hastalık rekürrensi ve azalmış surveyle belirgin ilişkili olduğunu ve prognostik gösterge olduğunu bildirmişlerdir (98).

Alok ve arkadaşlarının evre II ve evre III kolon karsinomlu 131 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada EGFR ekspresyonunun surveydeki kötüleşme ile birlikte olduğunu bildirdiler (92).

Metastatik lenf noduyla tümör dokusu EGFR ekspresyonları arasında korelasyon saptamayan Mc Kay JA ve arkadaşları sağkalımla da EGFR ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulamamışlardır (58).

Döger ve arkadaşlarının 60 vakalık serilerinde, EGFR ekspresyonunun kolorektal kanserde güvenilir bir prognostik marker olduğunu desteklemediğini saptamışlardır (90).

Bizim çalışmamızda EGFR %6-25 oranında immunpozitiflik gözlenen tümörlerde ortalama sağ kalım süresi 56.5 ay, %75 den fazla immunpozitiflik gözlenen tümörlerde ise 44 ay olarak saptandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Çalışmamızda primer tümör dokusunda EGFR ekspresyonu arttıkça p53 ekspresyonunun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Literatürde bu konuda herhangi bir yayına rastlamadık.

Kolorektal kanserde p53 gen mutasyonu %12.5-100 oranında saptanmıştır (63,99). Literatürde p53 gen mutasyon oranını en düşük Lin ve arkadaşları saptamıştır. Lin, kolorektal karsinomlarda p53 gen mutasyon sıklığını %14.3 oranında bulduklarını ve Çin popülasyonunda kolorektal karsinom etyopatogenezinde tümör supresör gen inaktivasyonu ve onkogen aktivasyonunun etkili faktörler olmadığını öne sürmüştür. Hamelin ve arkadaşları 85 hastayı kapsayan bir çalışmada p53 gen mutasyonunu %52 oranında saptarken (100). Ayhan ve arkadaşları dokularda %47 oranında mutant p53 protein varlığını tespit etmişlerdir (99). Bizim araştırmamızda bu oranı %80.4 olarak bulduk.

Pricolo ve arkadaşlarının 70 vakalık serilerinde, evre III kolon karsinomlarında 5 yıllık surveyi incelediler. p53 mutasyonu olmayan vakalarda 5 yıllık surveyi %75, p53 mutasyonlu vakalarda ise %21 olarak buldular. P53 mutasyonu varlığının mortalite için rölatif olarak büyük bir risk oluşturduğunu bildirdiler (101). Pricola ve arkadaşları evre II ve evre III kolon karsinomu içeren 141 vakalı başka bir çalışmalarında, evre II karsinomlu hastalarda 5 yıllık survey p53 mutasyonu olan tümörlerde %55 mutasyonu olmayanlarda %71 idi. Evre III kolon karsinomlu hastalarda 5 yıllık survey p53 mutasyonu olmayanlar için %63 iken, p53 mutasyonu olanlarda ise önemli ölçüde düşük (%26) idi. Bu sonuçlar, p53 gen mutasyonunun evre II ve evre III kolorektal kanserlerde ölümle ilişkili risk faktörü olduğunu ortaya koymaktadır. p53 mutasyonu olan hastalar hayatın herhangi bir anında mutasyonu olmayan hastalardan daha yüksek ölüm riskine sahiptir (102).

Aynı şekilde Houbiers ve arkadaşları erken evrelerde p53 mutasyonu saptanan hastaların p53 mutasyonu olmayanlara göre daha kötü prognoza sahip olduklarını rapor etmişlerdir (103).

Bunların aksine Fante ve arkadaşları p53 mutasyonunun genel olarak survey üzerine etkisinin olmadığını, ancak Dukes evre C'nin subgruplarında p53 mutasyonu olmayanlarda prognozun daha iyi olduğunu bildirmiştir (104). Starzynska ve arkadaşları ise p53'ün prognostik bir parametre olmadığını 102 vakalık çalışmalarının sonucuna göre bildirmişlerdir (105).

Kressner çalışmasında p53'ün tek başına bir prognostik değer taşıdığını, buna karşılık tümör evresi ile birlikte ele alındığında anlamlı bir sonuç çıkmadığını ve p53'ün bağımsız bir prognostik parametre olduğunu savunmuştur (106).

Hamelin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada p53 gen mutasyonu ile hastanın yaşam süresi arasında pozitif ilişkiye dikkat çekmiştir. Ortalama 6.2 yıllık süreci kapsayan araştırmalarında p53 gen mutasyonu olan olgularda prognozun daha ağır ve hastanın yaşam süresinin daha kısa olduğunu bildirmişlerdir (100).

Yutaka ve arkadaşlarının 93 vakalık serilerinde p53 onkoproteininin immunhistokimyasal saptanmasının artmış VEGF ekspresyonu ile ilişkili olduğunu göstermişler ve p53 onkoprotein yoğunluğunun VEGF ekspresyonu ile korelasyon gösterdiğini rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada p53 (+) kolorektal tümördeki Faktör VIII ile gösterilen MDY'nun, p53 (-) tümörlere göre belirgin olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir (86).

Perrone ve arkadaşları kolon kanseri içeren 57 vakalık çalışmalarında, p53 (-) tümörlerde VEGF ve vWf ile gösterilen MDY'nun, p53 (+) tümörlere göre belirgin olarak daha düşük olduğunu bildirdiler. P53 (-) tümörlerde MDY'nun ortalaması 68.5 saptarken, p53(+) tümörlerde 134.5 olarak bulmuşlar (84).

Liang ve arkadaşlarının evre III kolorektal kanserli 114 hasta grubunda yaptıkları çalışmada, CD34 immunhistokimyasal boyaması ile tespit edilen MDY'nun artması p53 overekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur. P53 (-) tümörlerde MDY ortalaması 66.5, p53 (+) tümörlerde MDY ortalaması 84.0 saptanmışlar (78).

Biz çalışmamızda yaşam süresi ile p53 onkoprotein ekspresyonu arasındaki ilişkiyi istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber p53 immunpozitiflik oranı artan hastalarda ortalama sağ kalım süresinin daha kısa olduğu bulduk. %0-5 oranında

immunopozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresi 51.6 ay iken, %75'den fazla immunopozitiflik gözlenen olgularda ortalama sağ kalım süresinin 18.1 ay olduğu saptadı. Çalışmamızda p53 ekspresyonu ile VEGF ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmezken, p53 ekspresyonu arttıkça CD-34 immunohistokimyasal boyaması ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptandı.

Ki-67, normal ve neoplastik hücre popülasyonunda büyüme oranlarının hızlı ve kolay yolla değerlendirilmesini sağlar. Artmış Ki-67 proliferasyon indeksi birçok kanserde bağımsız bir prognostik değere sahiptir (1,69,70).

Porschen ve arkadaşlarının 52 olguluk kolorektal karsinom ile ilgili çalışmalarında ortalama Ki-67 indeksini %38.7 olarak değerlendirmişlerdir. Ki-67 indeksi ile yaş, cinsiyet, tümör boyutu, lokalizasyonu, histopatolojik diferansiasyon, tümör evresi ve 5 yıllık yaşam süresi ile anlamlı bir farkın olmadığını saptamışlardır (107).

Linden ve arkadaşlarının bir çalışmada ise Ki-67 indeksi %48 oranında izlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen Ki-67 değerleri ile histopatolojik parametreler yanı sıra hiçbir klinikopatolojik bulgu arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (108).

Petrowsky ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, karaciğer metastazı bulunan kolorektal kanserli hastalarda Ki-67 ekspresyonunun surveyeyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (109).

Koert ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada primer ve metastatik kolorektal kanserde Ki-67 ile klinikopatolojik bulgular arasında ilişki saptamamışlardır. Ancak Ki-67 ekspresyonunun karaciğer metastazı unrezektabl olan vakalarda daha yüksek oranda gözlendiğini belirtmişlerdir (110).

Hideyuki ve arkadaşlarının Duke's C kolorektal kanserini içeren 234 vakalık çalışmalarında; metastatik lenf nodu olan kolorektal kanserli hastalarda metastatik lenf nodundaki proliferatif aktivitenin değerlendirilmesinde prognostik marker olarak Ki-67 proliferasyon indeksinin yararlı olabileceği belirtmişlerdir (111).

Kefeli ve arkadaşlarının 102 kolorektal kanserli vakayı içeren çalışmalarında az diferansiye adenokarsinomların Ki-67 indeksinin iyi diferansiye adenokarsinom ve orta derecede diferansiye adenokarsinoma göre yüksek olduğu bildirilmiştir. Tümörlerin histolojik alt tipi, evresi ve metastaz yapma özelliği yönünden bakıldığında ise gruplar arasında Ki-67 indeksi ile anlamlı bir ilişki saptamamışlardır (112).

Eeva ve arkadaşlarının rektal, rektosigmoid kanserli 146 hasta grubunda yaptıkları çalışmada, histopatolojik grade bağılı olmaksızın Ki-67 ekspresyonunun artması iyi surveyle ilişkilendirilmiş (113).

Bizim çalışmamızda, proliferasyon belirteci olarak Ki-67'nin proliferasyon indeksi değil, boyanma yüzdesi kullanılmıştır ve hastalar boyanma yüzdelerine göre 0-5 (0), %6-25 (1), %26-75 (2), %75'in üzeri (3) pozitif olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Çalışmamızda Ki-67 ekspresyonu arttıkça CD-31 immunohistokimyasal boyaması ile tespit edilen MDY'nun arttığı istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Kanserli dokuda Ki-67 immunpozitifliği ile karaciğer, akciğer ve kemik metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. Ki-67 için yaptığımız survi analizinde %26-75 oranında immunpozitiflik gözlenen tümörlerde ortalama sağ kalım süresi 43.4 ay, %75'den fazla immunpozitiflik gözlenen tümörlerde ise 28.9 ay olarak gözlendi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, 2001-2007 yılları arasında ADÜ Tıp Fakültesi Hastanesinde takip ve tedavi edilen, kolorektal kanser nedeniyle kalın bağırsak rezeksiyonu yapılmış 49 olgu belirlendi. 49 kanserli olgusunun 3'nün dosya bilgilerine ulaşamadığından çalışma dışı bırakıldı. Sonuç olarak 46 kanser olgusu çalışmaya dahil edildi.

Çalışma kapsamına alınan 46 hastanın yaşları 33 ile 94 arasında değişmekte idi. Ortalama yaş 64.52 ± 14.42 olarak bulundu. Hastaların 17'si (%37) kadın, 29'u (%63) erkekti. Primer hastalığın kolondaki lokalizasyonu 9 hasta (%19.6) sağ kolon, 37 hasta (%80.4) sol kolon şeklindeydi. Olguların takip süresi 0-60 ay arasında değişmektedir ve takip süresi sonunda tüm olguların 35'i (%76.1) halen hayatta iken, 11'i (%23.9) ise ölmüştü.

MHD, p53, Ki-67, VEGF, EGFR, CEA ekspresyonları ve MDY'nu primer tümör dokusunda, rezeksiyon materyalindeki normal kolon epitelyumunda immunohistokimyasal yöntemle araştırdık.

Kolorektal kanserde MHD;

Normal ve kanserli dokudaki MHD ile kanserli dokudaki VEGF ekspresyonu ve CD-31, CD-34 immunohistokimyasal boyama ile tespit edilen MDY arasında ilişki gözlenmesi kolorektal kanser hastalarında tedavinin ve prognostik göstergelerin belirlenmesinde araştırılması gereken bir konu olarak ortaya çıkmıştır. Çalışmamızda, rezeksiyon edilen tümör spesimeninin çevresindeki mikroskopik olarak malignite saptanmayan normal dokudaki ve tümör dokusundaki MHD ve CD-31 ve CD-34 ile gösterilen MDY arttıkça primer tümör dokusundaki VEGF ekspresyonunun arttığı istatistiksel olarak anlamlı saptandı. VEGF ekspresyonu ile sağ kalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon bulundu. VEGF ekspresyonu arttıkça sağ kalım süresinin kısaldığını saptadık. Anjiogenezin tümör büyümesi ve metastazlarında önemli rol oynaması sürvi ile anlamlılık düzeyine yakın bir ilişki göstermesini desteklemektedir. Normal ve kanserli dokuda MHD yüksek olan tümörlerde MHD daha az olan tümörlere göre ölüm oranı daha fazla gözlemlendi fakat bu istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı. Gelecekteki tedavi şekillerine mast hücre stabilizatörlerinin eklenmesi hem MHD'ni hem de MDY'nu ve VEGF ekspresyonunu engelleyerek kolorektal kanserlerin tedavisinde yeni ufuklar açabilir.

ÖZET

Kolorektal kanserlerde günümüzde en çok çalışılan konulardan biri, prognozu belirleyecek ve tedaviye dirençli tümörleri ortaya koyacak yeni parametrelerin saptanmasıdır. Bu amaçla birçok prognostik belirleyiciler ortaya konmuştur. Ancak bunların hiçbiri tek başına kullanıldığında yeterli etkinliğe sahip değildir. Bu çalışmanın amacı, histopatolojik olarak kolorektal kanser tanısı saptanan hastalarda, mast hücre dansitesi, p53 mutasyon varlığının, Ki-67, vasküler endotelial büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü reseptörü, karsinoembriyonik antijen ve mikro damar yoğunluğunun prognostik değerini araştırmaktır.

Çalışmamıza, 2001-2007 yılları arasında ADÜ Tıp Fakültesi Hastanesinde takip ve tedavi edilen, kolorektal kanser nedeniyle kalın bağırsak rezeksiyonu yapılmış 49 olgudan dosya bilgilerine ulaşılan 46 kanser olgusu dahil edildi. Mast hücre dansitesi, p53, Ki-67, vasküler endotelial büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü reseptörü, karsinoembriyonik antijen ekspresyonları ve mikro damar yoğunluğunu primer tümör dokusunda, rezeksiyon materyalindeki normal kolon epitelyumunda immunohistokimyasal yöntemle araştırdık.

Yapılan analizler sonucunda kanserli dokuda mast hücre dansitesi ile vasküler endotelial büyüme faktörü ekspresyonu arasında korelasyon gözlemlendi. Kanserli dokuda vasküler endotelial büyüme faktörü ekspresyonu ile sağ kalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptandı. Sağ kalım süresi ile mast hücre dansitesi, p53, Ki-67, epidermal büyüme faktörü reseptörü, karsinoembriyonik antijen ekspresyonları ve mikro damar yoğunluğu (CD-31 ve C-34 ile gösterilen) arasında istatistiksel olarak anlamlı saptanmayan negatif korelasyon bulundu. Kanserli dokuda Ki-67 ekspresyonu ile karaciğer, akciğer ve kemik metastazı arasında anlamlı ilişki izlendi.

Bu bulgular mast hücre dansitesinin ise vasküler endotelial büyüme faktörün ekspresyonu ile korele olduğunu, vasküler endotelial büyüme faktörün ekspresyonunun kısa sürviyle ilişkili olduğunu dolayısıyla mast hücre dansitesinin de kolorektal kanser hastalarında kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Kolorektal Kanser, p53, Ki-67, Anjiogenez İndükleyiciler

İletişim adresi: drfyildirim@yahoo.com

SUMMARY

Today, most of the studies focus on investigating new molecular and biochemical markers that define prognosis and predict tumor resistance to treatments. Novel prognostic markers manifested for this aim but none of them is competent alone. This study aimed to investigate the mast cell density, presence of p53 mutation and prognostic value of Ki-67, vascular endothelial growth factor, epidermal growth factor receptor, carcinoembryonic antigen and micro vessel thickness in the patients with histopathologically diagnosed colorectal cancer.

The study included 46 patient who underwent bowel resection for colorectal cancer at ADÜ Medicine Faculty between 2001 and 2007. Tissue samples from primary tumors and corresponding normal colon epithelium from 46 patients with colorectal cancer were immunohistochemically evaluated for mast cell density p53, Ki-67, vascular endothelial growth factor, epidermal growth factor receptor, carcinoembryonic antigen and micro vessel thickness.

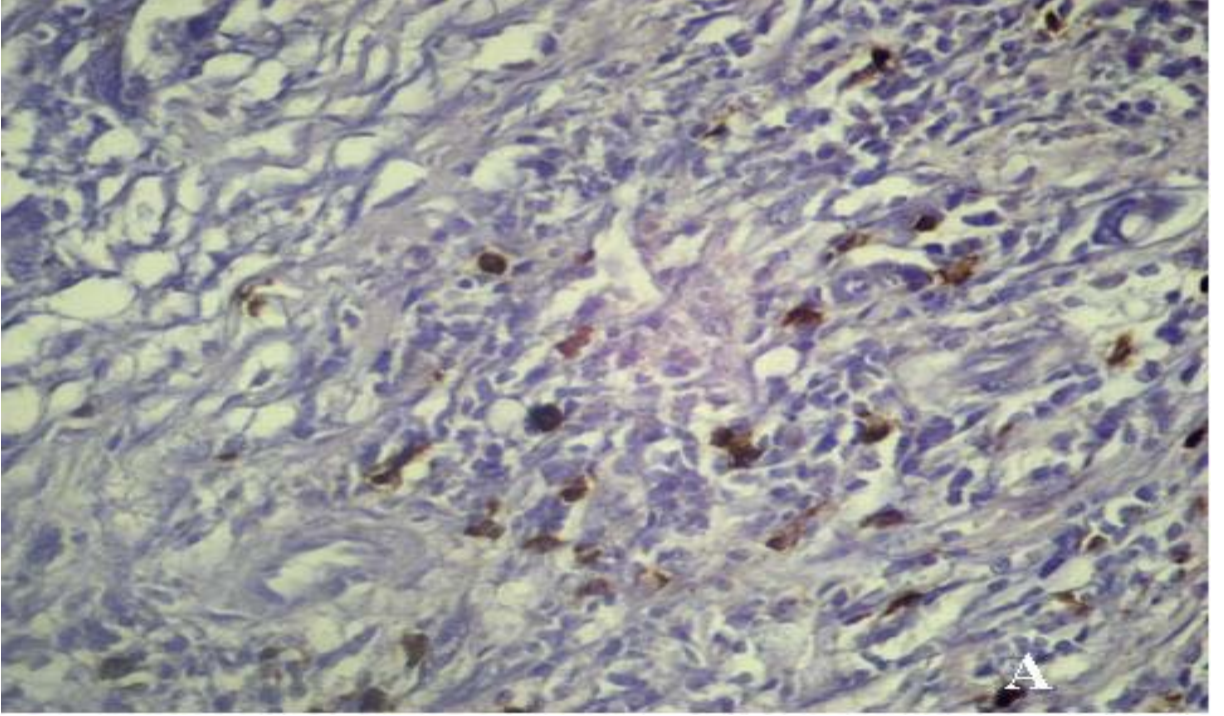
In this study, mast cell density was correlated with vascular endothelial growth factor expression at tumor tissue. And vascular endothelial growth factor was significantly negatively correlated with survival time. Negative correlations between survival time and p53, Ki-67, epidermal growth factor receptor, carcinoembryonic antigen expression, mast cell density and micro vessel thickness (demonstrated with CD-31 and C-34) were not statistically significant. Ki-67 expression was significantly correlated with liver, lung and bone metastasis.

The results demonstrated that mast cell density is associated with poor prognosis in the patients with colorectal cancer and vascular endothelial growth factor expression is associated with short survival time because of the correlation between mast cell density and a vascular endothelial growth factor expression.

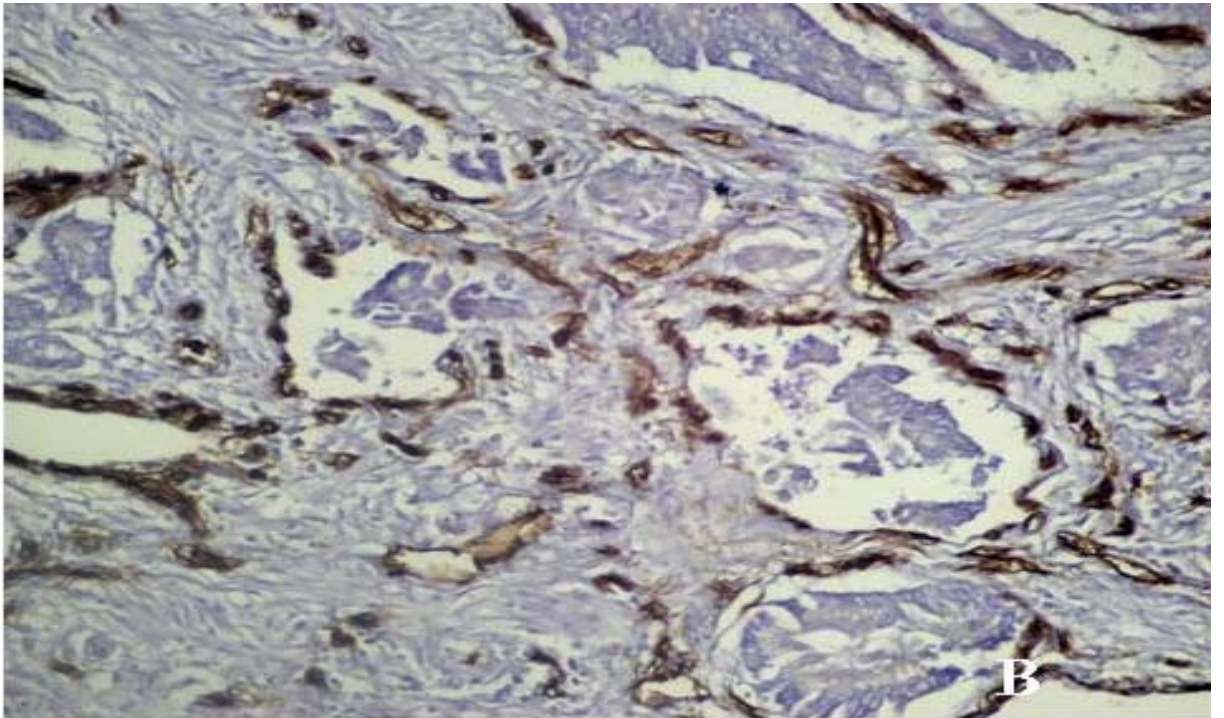
Key words: Colorectal cancer, p53, Ki-67, Angiogenesis inducers

Communication adress: drfyildirim@yahoo.com

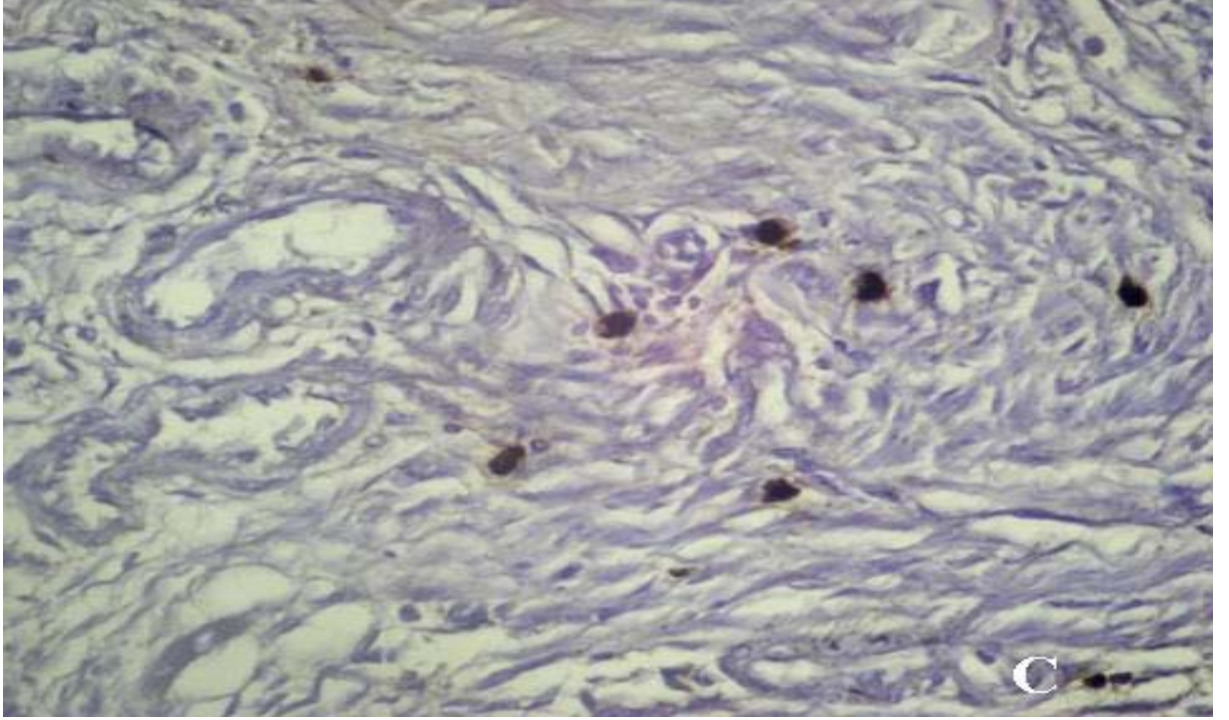
RESİMLER



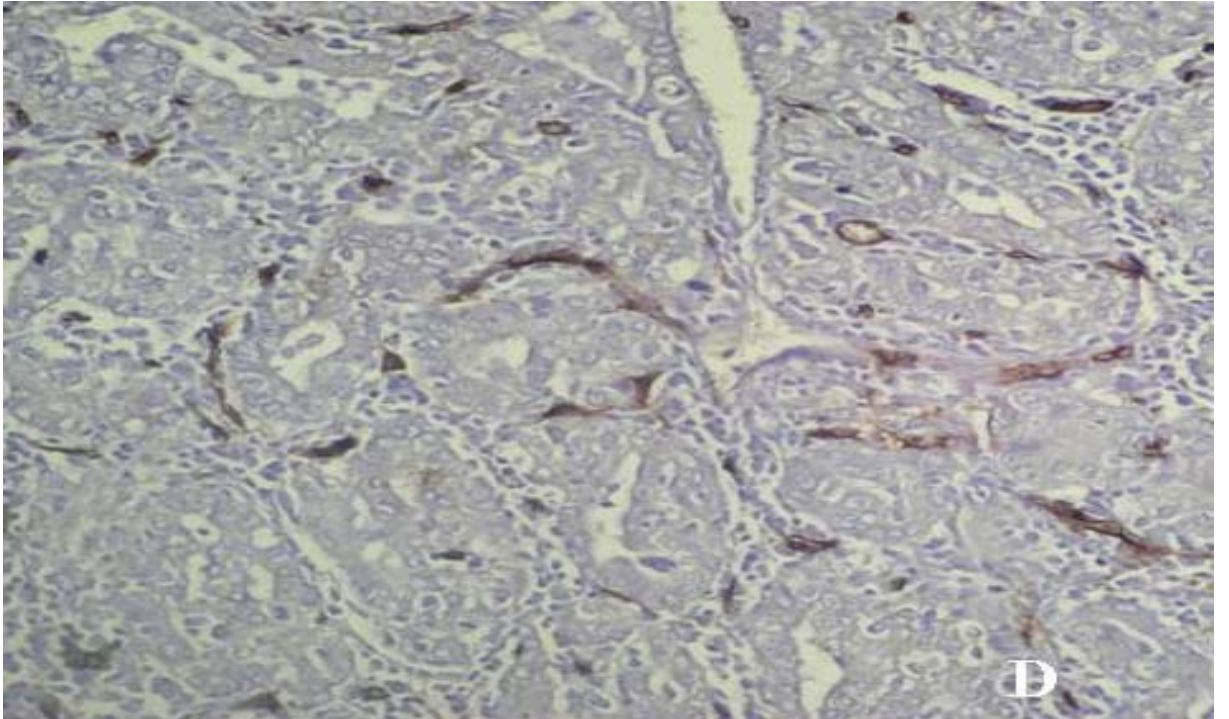
Resim 1 Artmış mast hücre yoğunluğu (antiMast cell tryptase x400).



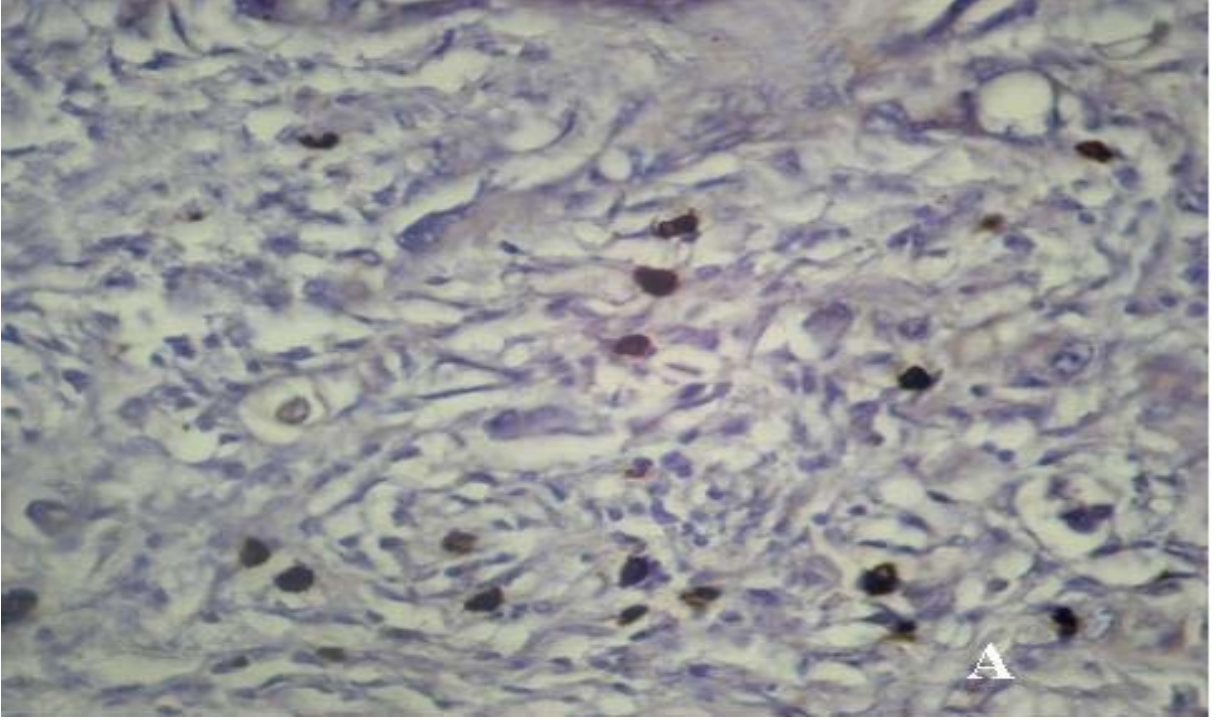
Resim 2 Aynı dokuda artmış mikrodamar yoğunluğu (antiCD-31 x200).



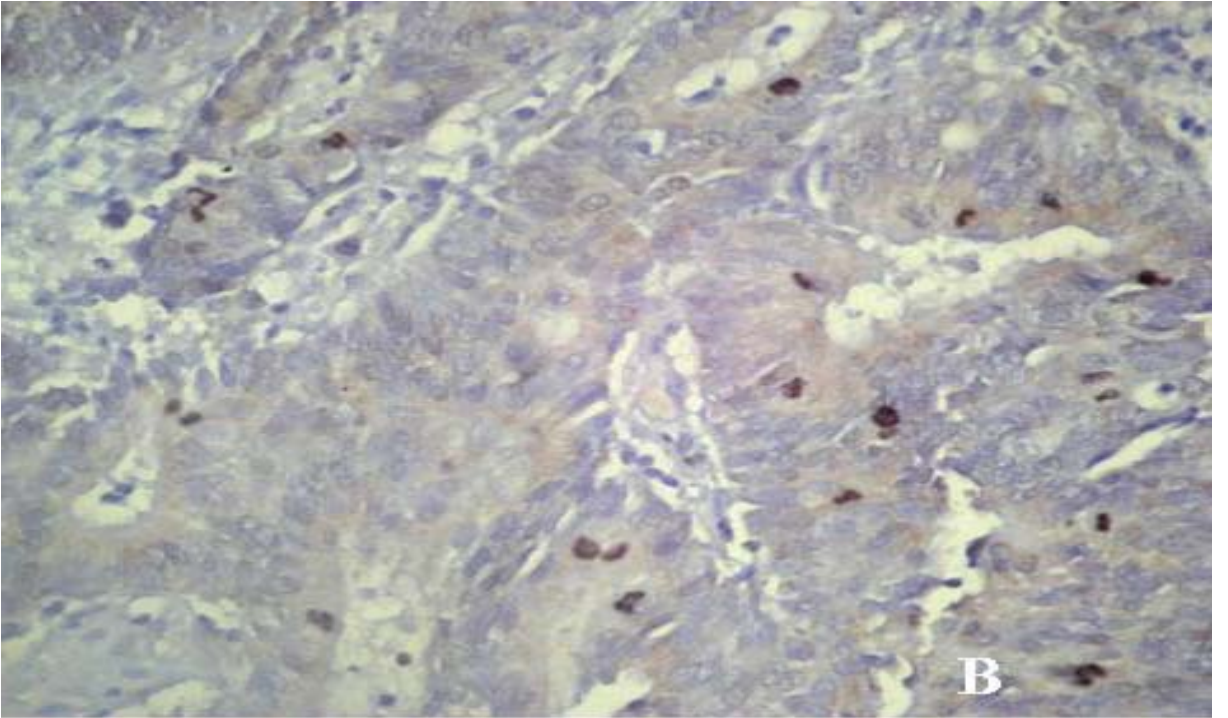
Resim 3 Az sayıda mast hücresi (antiMast cell tryptase x400).



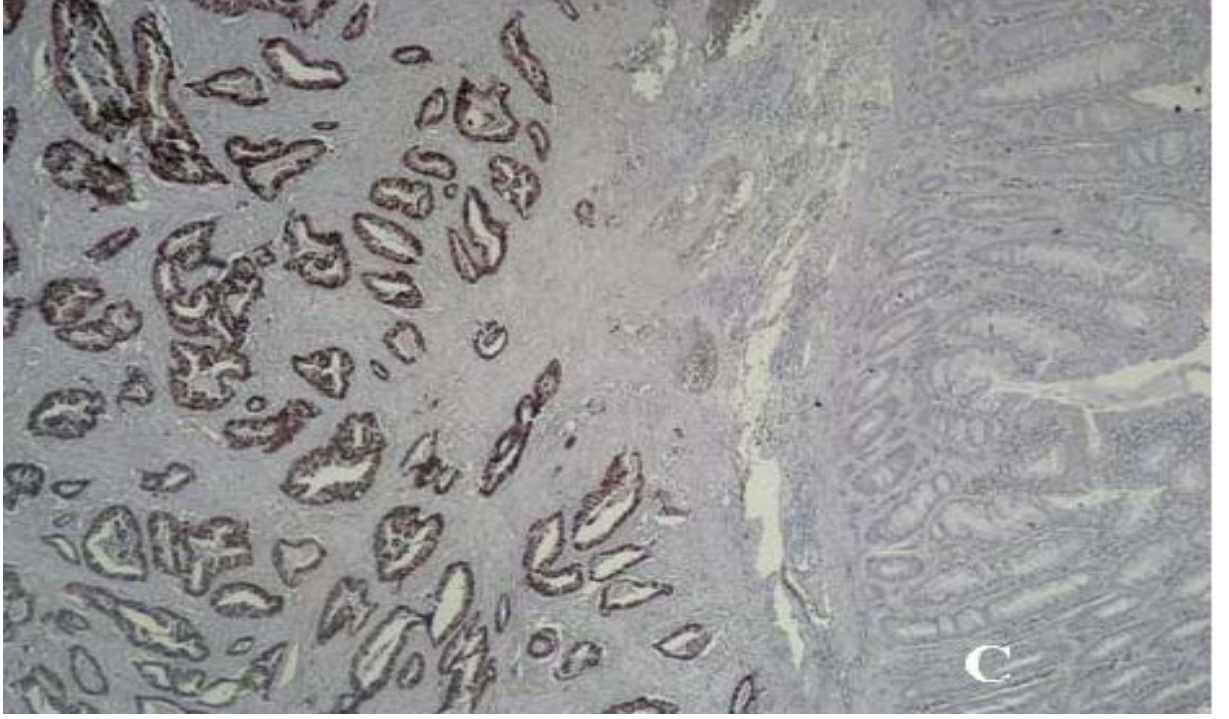
Resim 4 Aynı dokuda mikrodamar yoğunluğu (antiCD-31 x200).



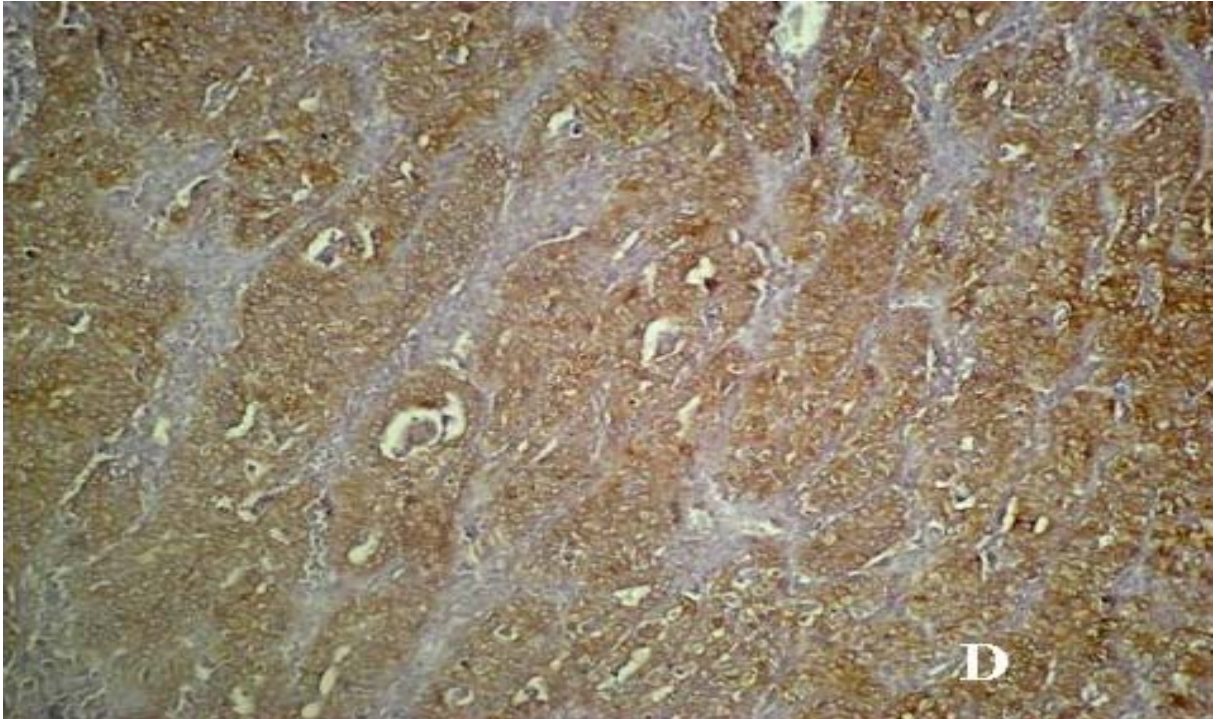
Resim 5 Mast hücre yoğunluğu (antiMast cell tryptase x400).



Resim 6 Artmış proliferatif indeks (AntiKi-67 x400).



Resim 7 p53 yoğunluğu (antip53 x100).



Resim 8 EGFR boyanması (anti EGFR x200).

KAYNAKLAR

1. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology In Rosai J. Gastrointestinal Tract. Large Bowel 2004; 1: 776-855.
2. Harpaz N, Saxena R. Modern Surgial Pathology. In: Weidner N, Cote RJ, Suster S, Weiss LM. Gastrointestinal Tract. Large İntestine 2003; 1: 749-852.
3. Ferlay J, Bray F, Pisani P. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. Globocan 2000.
4. <http://www.saglik.gov.tr/sb/default.asp?sayfa=ozelistatistik&id=116&kelime=&page=> Sağlık Bakanlığı İnternet Sitesi.
5. Uygun A, Uyguner C, Nazaroğlu N. Serum gastrin levels in patients with colorectal cancer. Türk J Gastroenterol 1998; 2: 187-190.
6. Jass JR. Diagnostic Histopathology of Tumors In Fletcher CDM, Livingstone C. Tumors of the Small and Large İntestines (Including the Anal region). 2000; 1: 369-409.
7. Mazurek A, Kuc P, Terlikowski S, Laudanski T. Evaluation of tumor angiogenesis and thymidine phosphorylase tissue expression in patients with endometrial cancer. Neoplasma 2006; 53: 242-246.
8. Marcel B. Living Blood cells and their ultrastructure. Springer-Verlag 1972: 543-550.
9. Theoharides TC. Mast cell and pancreatic cancer. N Engl J. Med 2008; 17: 1860-1861.
10. İlgi S, Gökşen Y, Sayek İ. Temel Cerrahi. Edit. Sayek İ. Gastrointestinal sistem anatomisi, kolorektal polipler ve poliposis sendromları, kolorektal karsinomlar. Ankara: Güneş Kitabevi, 1991; 67: 816-839.
11. Bozfakıoğlu Y, Müslümanoğlu M. Cerrahi Gastroenteroloji. Edit. Değerli Ü, Bozfakıoğlu Y, kolon hastalıkları. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi, 1997; 4: 142-168.
12. Hamilton SR, Vogelstein B, Kudo S, Riboli E, Nakamura S, Hainaut P, Rubio CA, Sobin LH, Fogt F, Winawer SJ, Goldgar DE, Jass JR. World health organisation classification of tumors. Pathology and genetics of tumors of the digestive system. In: Hamilton SR, Altonen LA. Tumors of colon and rectum. France: IARC Pres 2000: 103-143.
13. Crawford JM, Kumar V. Robbins Temel Patoloji. In Çevikbaş U. Ağız Boşluğu ve Gastrointestinal Sistem. 7. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2003: 563-590.
14. Weitz J, Koch M, Debus J, Höhler T, Galle PR, Büchler MW. Colorectal cancer. Lancet 2005; 365: 153-165.

15. McCashland TM, Brand B, Lyden E, Garmo P. Gender difference in colorectal polyps and tumors. *The American Journal of Gastroenterology* 2001; 96: 882-886.
16. Nelson RL, Dollear T, Freels S, Persky V. The relation of age, race and gender to the subsite location of colorectal carcinoma. *Cancer* 1997; 80: 193-197.
17. Barum ML. Colorectal cancer screening. *Primary Care, Clinics In Office Practice*. 2001; 28: 661-674.
18. Cooper HS. Sternberg's diagnostic surgical pathology. In: Mills SE. *Intestinal neoplasma*. Lipincott Williams & Wilkins 2004; 2: 1543-1601.
19. Dalton P, Chandrasoma P. *Gastrointestinal Pathology in Chandrasoma P. Colorectal malignant neoplasm*. 1 st ed. Stamford Connecticut: Appleton & Lange 1999: 339-364.
20. Miyaki M, Lijima T, Ishii R, Kita Y, Koike M, Kuroki T. Increased frequency of p53 mutation in sporadic colorectal cancer from cigarette smokers. *J. Clin. Onkol* 2002: 196-231.
21. Redston M. *Surgical pathology of the GI tract, liver, biliary tract, and pancreas*. Saunders 2004: 441-472.
22. Khorana AA, Ryan CK, Cox C, Eberly S, Sahasrabudhe DM. Vascular endothelial growth factor, CD68, and epidermal growth factor receptor expression and survival in patients with stage II and stage III colon carcinoma. *Cancer* 2003; 97: 960-968.
23. Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Cancer Biol*. 1992; 3: 65.
24. Bouck N, Stellmach V, Hsu SC. How tumors become angiogenic. *Cancer Res* 1996; 69: 165.
25. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanism of the anjiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86: 393.
26. Cao Y. Tumor angiogenesis and therapy. *Biomed Pharmacother* 2005; 59: 340-343.
27. Senger DR, Van de Water L, Brown LF, Nagg JA, Yeo KT, Berse B, Jackson RW, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in tumor biology. *Cancer Metastasis Rew* 1993; 12: 303.
28. Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumor growth in vivo. *Nature* 1993; 362: 841.
29. Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B. *Hematology basic principles and practice*. Churchill Livingstone 2000: 702-837.

30. Wiernik PH, Canellos GP, Dutcher JP, Kyle RA. Neoplastic diseases of the blood. Churchill Livingstone 1998: 219-220.
31. Norrby K. Mast cells and angiogenesis. *APMIS* 2002; 110: 355-371.
32. Marone G, Gali SJ, Kitamura Y. Probing the roles of mast cells and basophils in natural and acquired immunity, physiology and disease. *Trends in Immunology* 2002; 23: 425-427.
33. Abdel-Majid RM, Marshall JS. Prostaglandin E2 induces degranulation-independent production of vascular endothelial growth factor by human mast cells. *J Immunol* 2004; 172: 1227-1236.
34. Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells. *Phys Rev*. 1997; 77: 1033-1079.
35. Stenton GR, Vliagoftis H, Befus AD. Role of intestinal mast cells in modulating gastrointestinal pathophysiology. *Annals of Allergy, Asthma, & Immunology* 1998; 81: 1-12.
36. Nienartowicz A, Lotowska MS, Cyrta EJ, Lemancewicz D. Mast cell in neoangiogenesis. *Med Sci Moint* 2006; 12: 53-56.
37. Puxeddu I, Piliponsky AM, Bachelet I, Levi-Schaffer F. Mast cells in allergy and beyond. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 1601-1607.
38. Irani AA, Schwartz LB. Mast cell heterogeneity. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 143-155.
39. Malaviya R, Ikeda T, Ross E, Abraham SN. Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearance at sites of infection through TNF-alpha. *Nature* 1996; 381: 77-80.
40. Lantz CS, Boesiger J, Song CH, Mach N, Kobayashi T, Mulligan RC, Nawa Y, Dranoff G, Galli SJ. Role for interleukin-3 in mast cell and basophil development and in immunity parasites. *Nature* 1998; 392: 90-93.
41. Hiromatsu Y, Toda S. Mast cell and anjiogenesis. *Microsc Res Tech* 2003; 60: 64-69.
42. Bankl HC, Valent P. Mast cells, thrombosis and fibrinolysis. The emerging concept. *Thrombosis Research* 2002; 105: 359-365.
43. Halvorsen OJ, Hoiseter PA. Independent prognostic importance of microvessel densty in clinically localized prostate cancer. *Anticancer Research* 2000; 20: 3791-3800.
44. Gougos A, Letarte M. Identification of a human endothelial cell antigen with monoclonal antibody 44G4 produced against a pre-B leukemic cell line. *J. Immunol* 1988; 141: 1925-1933.

45. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors-definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arc* 2001; 438: 1-12.
46. Fletcher CM, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ, Miettinen M, O'Leary TJ, Remotti H, Rubin BP, Shmookler B, Sobin LH, Weiss SW. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Human Pathology* 2002; 33: 459-465.
47. Ferrara N. VEGF an update on biological and therapeutic aspects. *Curr Opin Biotechnol* 2000; 11: 517-524.
48. Fons P, Herault JP, Delesque N, Tuyaret J, Bono F, Herbert JM. VEGF-R2 and Neurophilin-I are involved in VEGF-A induced differentiation of human bone marrow progenitor cells. *J Cell Physiol* 2004; 200: 351-359.
49. Akbulut H, Altuntas F. Prognostic role of serum vascular endothelial growth factor and nitric oxide in patients with colorectal carcinoma. *Cytokine* 2002; 20: 184-190.
50. Desruisseau S, Palmari J, Giusti C, Romain S, Martin PM, Berthois Y. Clinical relevance of Amphiregulin and VEGF in primary breast cancers. *Int J Cancer* 2004; 111: 733-740.
51. Poon RT, Ho JW, Tong CS, Lau C, Ng IO, Fan ST. Prognostic significance of serum vascular endothelial growth factor and endostatin in patients with hepatocellular carcinoma. *Br J Sur* 2004; 91: 1354-1360.
52. Barry BI, Lowitz C, Dennis A. Casciato Kanser biyolojisi ve onkogenler. *Medical Oncology & Principles of Cancer Biology*. 2000: 123-27.
53. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 1962; 237: 1555-1562.
54. Layfield LJ, Bernard PS, Goldstein NS. Color multiplex polymerase chain reaction for quantitative analysis of epidermal growth factor receptor genes in colorectal adenocarcinoma. *J Surg Oncol* 2003; 83: 227-231.
55. Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2004; 59: 21-26.
56. Resnick MB, Routhier J, Konkin T, Sabo E, Pricolo VE. Epidermal growth factor receptor, c-MET, beta-Catenin, and p53 expression as prognostic indicators in stage II colon cancer: a tissue microarray study. *Clinical Cancer Research* 2004; 10: 3069-3075.

57. Suzuki S, Dobashi Y, Sakurai H, Nishikawa K, Hanawa M, Ooi A. Protein overexpression and gene amplification of epidermal growth factor receptor in nonsmall cell lung carcinomas. *Cancer* 2005; 103: 1265-1273.
58. McKay JA, Murray LJ, Curan S, Ross VG, Clark C, Murray GI, Cassidy J, McLeod HL. Evaluation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal tumors and lymph node metastases. *European Journal of Cancer* 2002; 38: 2258-2264.
59. Kopp R, Rothbauer E, Mueller E, Schildberg FW, Jauch K, Pfeiffer A. Reduced survival of rectal cancer patients with increased tumor epidermal growth factor receptor levels. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 1391-1399.
60. Levine JA. P53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997; 88: 323-331.
61. Haris CC. Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies. *Journal of The National Cancer Institute* 1996; 88: 1442-1546.
62. Prives C, Hall PA. An overview of p53 structure and function. *Journal of Pathology* 1999; 187: 112-126.
63. Porter PL, Gown AM, Kramp SG, Coltera MD. Widespread p53 overexpression in human malignant tumors. *American Journal of Pathology* 1992: 145-153.
64. Baker S, Feoran ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger C, Jessup JM, Van Tuinen P, Ledbetter DH, Barker D, Nakamura Y, Vogelstein B. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989; 244: 217-220.
65. Yasumoto J, Takahashi A, Ohnishi, Yuki K, Kirita T, Ohnishi T. Analysis of Apoptosis-related gene expression after X-ray irradiation in human tongue squamous cell carcinoma cells harboring wild-type or mutated p53 gene. *J. Radiat Res* 2003; 44: 41-45.
66. Sheikh RA, Yasmeen S, Prindiville T. Biological markers and colorectal cancer. *JK-Practitioner* 2002; 9: 215-218.
67. Rupnarain C, Dlamini Z, Naicker S, Bhoola K. Colon cancer genomics and apoptotic events. *Biol Chem* 2004; 385: 449-464.
68. Slattery MY, Curtin K, Edwards S, Schaffer D, Anderson K, Samowitz W. Diet, activity and lifestyle associations with p53 mutations in colon tumors. *Biomarkers & Prevention* 2002; 11: 541-548.

69. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983; 31: 13-20.
70. Dabbs DJ. *Diagnostic immunohistochemistry Philadelphia*. Churchill Livingstone 2002.
71. Antony W, Burch, Nicole A. Massoll, Alex A. Pappas. Tumor markers. In: *Clinical Chemistry. Principles, procedures, correlations*. Michael L. Bishop, Janet L. Duben, Engel Kirk Edward P. Fody, Eds. Lippincott Williams and Wilkins 2000; 522-536.
72. Humphrey PA. The role of tumor markers in early detection of cancer. *Semin Surg Oncol* 1989; 5: 186-193.
73. Hans N, Ulla H, Jarle C, Claus M, Nils B, Flemming M and the ranx05 study group. Independent prognostic value of eosinophil and mast cell infiltration in colorectal cancer tissue. *J. Pathol* 1999; 189: 487-495.
74. Ying-An J, You-Yuan Z, He-Sheng L, Shou-Fu X. Mast cell density and the context of clinicopathological parameters and expression of p185, estrogen receptor, and proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 1005-1008.
75. Shi-Yu T, Yan F, He-Sheng L, Zhi-Xiang S, Yi G, Liang-Jia Z. Prognostic significance of cell infiltrations of immunosurveillance in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1210-14.
76. Açıklın M, Ülkü Ö, Topçu İ, Yaşar B, Kiper H, Çolak E. Tumor angiogenesis and mast cell density in the prognostic assessment of colorectal carcinomas. *Digestive and Liver Disease* 2005; 37: 162-9.
77. Lackner C, Jukic Z, Tsybrovskyy O, Jatzko G, Wette V, Hoefler G, Klimpfinger M, Denk H, Zatloukal K. Prognostic relevance of tumor-associated macrophages and von Willebrand factor-positive microvessels in colorectal cancer. *Virchows Arch* 2004; 445: 160-167.
78. Liang TJ, Huang KC, Jeng Y, Lee P, Lai S, Hsu CH. Microvessel density, cyclooxygenase 2 expression, K-ras mutation and p53 overexpression in colonic cancer. *British Journal of Surgery* 2004; 91: 355-361.
79. Shu Z, Ming-Yong H, Zuo-Xiang X, Jia-Ping P, Qi D. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression and neovascularization in colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1227-1230.

80. Sternfeld T, Foss H, Kruschewski M, Runkel N. The prognostic significance of tumor vascularization in patients with localized colorectal cancer. *Int J. Colorectal Dis* 1999; 14: 272-276.
81. John CK, Alessandra M, Vera L, Fritz I, Joanne R, Kathryn O, Philip JD, Michael S. Mast cell density, angiogenesis, blood clotting, and prognosis in women with advanced ovarian cancer. *Gynecologic Oncology* 2005; 99: 20-25.
82. Tuna B, Yörükoğlu K, Unlu M, Mangan UM, Kırkali Z. Association of mast cells with microvessel density in renal cell carcinomas. *European Urology* 2006; 5: 1141-1145.
83. Tomita M, Matsuzaki Y, Edagawa M, Shimizu T, Hara M, Sekiya R, Onitsuka T. Association of mast cells with tumor angiogenesis in esophageal squamous cell carcinoma. *Diseases of the Esophagus* 2001; 14: 135-138.
84. Perrone G, Vincenzi B, Santini D, Verzi A, Tonini G, Vetrani A, Rabitti C. Correlation of p53 and bcl-2 expression with vascular endothelial growth factor (VEGF), microvessel density (MVD) and clinicopathological features in colon cancer. *Cancer Letters* 2004; 234: 208-227.
85. Shu Z, Ming-Yong H, Zuo-Xiang X, Jia-Ping P, Qi D. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression and neovascularization in colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1227-1230.
86. Yutaka T, Corazon DB, Karen RC, Lee ME. P53, vessel count, and vascular endothelial growth factor expression in human colon cancer. *Int. J. Cancer* 1998; 79: 34-38.
87. Tataroğlu C, Polat A, Kargı A, Şengiz S, Çamdeviren H, Küpelioglu A. Kolorektal karsinomlarda invazyon derinliğinin neovaskularizasyon, peritümöral NK hücresi, makrofaj ve eozinofil lökositlerle ilişkisinin araştırılması. *Türk Patoloji Dergisi* 2005; 21: 49-53.
88. Oh-e H, Tanaka S, Kitadai Y, Shimamoto F, Yoshihara M, Haruma K. Angiogenesis at the site of deepest penetration predicts lymph node metastasis of submucosal colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 1229-1236.
89. Lee JC, Chow NH, Wang ST, Huang SM. Prognostic value of VEGF expression in colorectal cancer patients. *Eur J Cancer* 2000; 36: 748-753.
90. Döğer F, Meteoglu İ, Tunçyürek P, Okyay P. Does the EGFR and VEGF expression predict the prognosis in colon cancer. *Eur Surg Res* 2006; 38: 540-544.

91. Durak D, Cingi A, Manukya M, Kaya H, Özdemir A, Yegen C. Kolo-rektal kanserlerde vasküler endotelial büyüme faktörü ekspresyonunun prognoz üzerine etkisi. *Marmara Medical Journal* 2005; 18: 53-58.
92. Alok AK, Charlotte KR, Chrisopher C, Shirley E, Deepak MS. Vascular endothelial growth factor, CD68, and epidermal growth factor receptor expression and survival in patients with stage II and stage III colon carcinoma. *American Cancer Society* 2003; 97: 960-968.
93. Cascinu S, Staccioli MP, Gasparini G, Giordani P, Catalano V, Ghiselli R, Rossi C, Baldelli AM, Graziano F, Saba V, Muretto P, Catalano G. Expression of vascular endothelial growth factor can predict event-free survival in stage II colon cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2803-2807.
94. Koop R, Rothbauer E, Ruge M, Arnholdt H, Spranger J, Muders M, Pfeiffer DG, Schildberg FW, Pfeiffer A. Clinical implications of the EGF receptor/ligand system for tumor progression and survival in gastrointestinal carcinomas: evidence for new therapeutic options. *Resent Results Cancer Res* 2003; 162: 115-132.
95. Cunningham MP, Essapen S, Thomas H, Gren M, Lovell DP, Topham C, Marks C, Modjtahedi H. Coexpression of the IGF-IR; EGFR and HER-2 is common in colorectal cancer patients. *Int J Oncol* 2006; 28: 329-335.
96. Spano JP, Lagorce C, Atlan D, Milano G, Domont J, Benamouzig R, Atar A, Benichou J, Martin A, Morere JF; Raphael M, Penault-L LF, Breau JL, Fagard R, Khayat D, Wind P. Impact of EGFR expression on colorectal cancer patient prognosis and survival. *Annals of Oncology* 2005; 16: 102-108.
97. Gennaro G, Eva L, Francesca F, Ferdinando De Vite, Paolo C, Michele O, Vincenzo I, Anna La Mura, Giovanni La Mana, Margherita P, Giuseppe C, Carlo P, Fortunato C. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor expression in colon cancer patients undergoing curative surgery. *Annals of Surgical Oncology* 2006; 13: 823-835.
98. Murray BR, Justin R, Tamako K, Edmond S, Victor EP. Epidermal growth factor receptor, c-MET, β -Catenin, and p53 expression as prognostic indicators in stage II colon cancer: a tissue microarray study. *Clinical Cancer Research* 2004;10: 3069-3075.
99. Ayhan A, Yasui W, Ji ZQ, Kuniyasu H, Yokozaki H. Fanatic abnormalities and expression of p53 in human colon carcinomas. *International Journal of Oncology* 1992: 431-437.

100. Hamelin R, Laurent-Puig P, Olschwang S, Jego N, Asselian B, Remvikos Y, Girodet J, Salmon RJ, Thomas G. Association of p53 mutation with short survival in colorectal cancer. *Gastroenterology* 1994; 106: 42-48.
101. Pricolo VE, Finkelstein SD, Wu TT, Keller G, Bakker A, Swalsky PA, Bland KI. Prognostic value of TP53 and K-ras-2 mutational analysis in stage III carcinoma of the colon. *Am J Surg* 1996; 171: 41-46.
102. Pricolo VE, Finkelstein SD, Hansen K, Cole BF, Bland KI. Mutated p53 gene is an independent adverse predictor of survival in colon carcinoma. *Arch Surg* 1997; 132: 371-375.
103. Houbiers JG, Va-der Burg SH, Van-de Watering LM, Tollenaar RO, Brand A, Van-de Velde CJ, Melief CJ. Antibodies against p53 are associated with poor prognosis of colorectal cancer. *Br J Cancer* 1995; 72: 637-641.
104. Fante R, Di Gregorio C, Losi L, Roncucci L, Ponz de Leon M. Clinicopathological correlation and prognostic significance of nuclear p53 protein in colorectal cancer. *Ital J Gastroenterol* 1996; 28: 205-210.
105. Starzynska T, Bromley M, Marlicz K, Roberts SA, Uciniski M, Sternk PL. Accumulation of p53 in relation to long-term prognosis in colorectal carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9: 183-186.
106. Kressner U, Glimelius B, Bergstrom R, Pahlman L, Larsson A, Lindmark G. Increased serum p53 antibody levels indicate poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Br J Cancer* 1998; 77: 848-851.
107. Porschen R, Lohe B, Hengels KJ, Borchard F. Assessment of cell proliferation in colorectal carcinomas using the monoclonal antibody Ki-67. *Cancer* 1989; 64: 2501-2505.
108. Linden MD, Ma CK, Kubus J, Brown RD, Zarbo RJ. Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen tumor proliferative indices in DNA diploid colorectal adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 206-212.
109. Petrowsky H, Sturm I, Graubitz O, Kooby DA, Staib-Sebler E, Gog C, Köhne CH, Hillebrand T, Daniel PT, Fong Y, Lorenz M. Relevance of Ki-67 antigen expression and K-ras mutation in colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol* 2001; 27: 80-87.
110. Koert P, De J, Rudi S, Arend K, Jan K, Annette H. G, Wim J.S, Paul P, Maarten S, Elisabeth de V. Clinical relevance of transforming growth factor α , epidermal growth

factor receptor, p53 and Ki-67 in colorectal liver metastases and corresponding primary tumors. *Hepatology* 1998; 28: 971-979.

- 111.** Hideyuki I, Hideaki M, Masayuki T, Seizo M, Hiroshi I, Junzo S, Koji E, Hitoshi K, Takatoshi K, Hiroshi F, Hitoshi K. Ki-67 and CEA expression as prognostic markers in Dukes' C colorectal cancer. *Cancer Letters* 2004; 207: 109-115.
- 112.** Kefeli M, Karagöz F, Barış S, Yıldız L, Aydın O, Kandemir B. Kolorektal karsinomlarda E-Cadherin ve Ki-67 ekspresyonunun evre, histolojik tip ve derece ile ilişkisi. *Türk Patoloji Dergisi* 2005; 21: 8-10.
- 113.** Eeva S, Salla P, Tero V, Peter JR, Karl-Owe S. Increased proliferation activity measured by immunoreactive Ki-67 is associated with survival improvement in rectal/recto sigmoid cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3245-3249.

