

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**METASTATİK KOLOREKTAL KANSERLİ
HASTALARDA KRAS MUTASYON
DURUMUNUN KLİNİKOPATOLOJİK
ÖZELLİKLER, SAĞKALIM SÜRELERİ VE
TEDAVİ YANITLARI İLE İLİŞKİSİNİN
RETROSPEKTİF OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. TÜLAY AKMAN

TIBBİ ONKOLOJİ UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2012

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**METASTATİK KOLOREKTAL KANSERLİ
HASTALARDA KRAS MUTASYON
DURUMUNUN KLİNİKOPATOLOJİK
ÖZELLİKLER, SAĞKALIM SÜRELERİ VE
TEDAVİ YANITLARI İLE İLİŞKİSİNİN
RETROSPEKTİF OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIBBİ ONKOLOJİ UZMANLIK TEZİ

DR. TÜLAY AKMAN

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. İLHAN ÖZTOP

İÇİNDEKİLER:

TABLO LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
KISALTMALAR.....	V
ÖNSÖZ.....	VI
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	3
B. GİRİŞ VE AMAÇ	4
C. GENEL BİLGİLER	6
KOLOREKTAL KANSERLER	
1) Epidemiyoloji, İnsidans ve Mortalite	6
2) Etiyoloji.....	6
I- Kalıtsal Risk Faktörleri	7
II- Polipler.....	9
III- İnflamatuvar Barsak Hastalıkları.....	10
IV- Çevresel Faktörler	10
3) Anatomi.....	11
4) Patoloji	12
5) Adenom-Karsinom Sekansı ve Kolorektal Karsinogenez.....	13
I- Kolorektal Karsinogenezde Moleküler Ara Yollar.....	15
a) Kromozomal İnstabilite.....	15
b) Mikrosatellit İnstabilite (MSI) Ara Yolu	17
c) “CPG” Ada Metilatör Fenotipi (“CIMP”) Ara Yolu.....	18
6) Kolorektal Kanser Gelişiminde Rol Alan Onkogen Mutasyonları	19
7) Kolorektal Kanser Tanısı ve Klinik Bulgular	23
8) Kolorektal Kanser Taraması	23
9) Prognoz	24
10) Evreleme	25
11) Tedavi.....	27
I- Cerrahi	27
II- Radyoterapi.....	28
III- Kemoterapi	28

a) Evre III Kolon Kanserinde Adjuvan Tedavi	28
b) Evre II Kolon Kanserinde Adjuvan Kemoterapi.....	30
c) Rektum Kanserinde Adjuvan Kemoterapi.....	30
d) Metastatik Kolorektal Kanserde Kemoterapi.....	31
D. GEREÇ VE YÖNTEM	42
E. SONUÇLAR.....	51
F. TARTIŞMA.....	75
G. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	81
H. KAYNAKLAR.....	82



TABLO LİSTESİ:

Tablo 1: Kolorektal Tümörlerde TNM Sınıflaması	26
Tablo 2: Anatomik evreleme ve prognostik gruplar.....	27
Tablo 3. KRAS geni'nde saptanan mutasyonlar	47
Tablo 4. PCR Master miks hazırlığı	48
Tablo 5. Amplifikasyon reaksiyonu hazırlığı	49
Tablo 6. PCR şartları	49
Tablo 7. Sap-Exo reaksiyonu hazırlığı	49
Tablo 8. Sap-Exo inkübasyon koşulları.....	50
Tablo 9. Hastalara ait demografik ve klinik bulgular	53
Tablo 10. Hastalara ait patolojik bulgular	54
Tablo 11. Hastalara ait tanı anındaki evreleme (TNM) ile ilgili bulgular	56
Tablo 12. Metastazların yerleşim ve dağılım özellikleri	57
Tablo 13. Hastaların aldıkları tedavi tipleri.....	58
Tablo 14. Metastatik Hastalıkta Kullanılan Kemoterapi Tipleri	58
Tablo 15. KRAS Mutasyon Durumu Sonuçları.....	59
Tablo 16. Hastalara ait demografik ve klinik bulgularla KRAS mutasyon durumu dağılımı..	60
Tablo 17. Hastalara ait patolojik bulgularla KRAS mutasyon durumu dağılımı.....	61
Tablo 18. Hastalara ait tanı anındaki evrelemeye (TNM) göre KRAS mutasyon durumu sonuçları	63
Tablo 19. Metastazların yerleşim ve dağılım özelliklerine göre KRAS mutasyon durumu.....	64
Tablo 20. Neoadjuvan KRT yanıt sonuçlarının değerlendirilmesi.....	65
Tablo 21. Metastatik hastalıkta kemoterapi yanıtlarıyla KRAS mutasyon durumu ilişkisi	66
Tablo 22. Tüm hasta grubunda ve KRAS mutasyon durumuna göre sağkalım analizi sonuçları	69

ŞEKİL LİSTESİ:

Şekil 1: Kolorektal Karsinogeneze Etyolojik Yaklaşım	7
Şekil 2. Kalın Barsağın Anatomik Bölümleri	12
Şekil 3. Kolorektal Karsinogeneze Fearon ve Vogelstein Modeli	13
Şekil 4. Kolorektal Adenom-Karsinom oluşum sürecinde oluşan mutasyonlar ve genetik değişiklikler	15
Şekil 5: RAS-RAF-MEK- MAPK Sinyal Yolağı	17
Şekil 6. EGFR sinyalizasyon yolağına etki eden mutasyonlar ve sonuçları	20
Şekil 7. İş akış şeması	43
Şekil 8. Analizlerin yapıldığı mikrodizin cihazı	50
Şekil 9. Tüm grubun genel sağkalım analizi	67
Şekil 10. KRAS mutasyon durumuna göre genel sağkalım analizi	68
Şekil 11. Tüm grubun hastalıksız sağkalım analizi.....	70
Şekil 12. KRAS mutasyon durumuna göre hastalıksız sağkalım analizi	71
Şekil 13. Metastatik hastalıktaki ilk sıra tedavi sonrası tüm hasta grubunda progresyonsuz sağkalım analizi	72
Şekil 14. Metastatik hastalıktaki ilk sıra tedavi sonrası KRAS mutasyon durumuna göre progresyonsuz sağkalım analizi	73
Şekil 15. Tüm hasta grubunda setuksimab tedavisi sonrası progresyonsuz sağkalım Analizi	74

KISALTMALAR:

KRK: Kolorektal Kanser

EGFR: Epidermal Growth Faktör Reseptörü

MSI: Mikrosatellit İnstabilite

MSS: Mikrosatellit-stabil

MSI-H: Yüksek Mikrosatellit İnstabilite

MSI-L: Düşük Mikrosatellit İnstabilite

MMR: Mismatch Repair

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

FAP: Familial Adenomatöz Polipozis

APC: Adenomatöz Polipozis Koli

HNPCC: Herediter Non Polipozis Kolorektal Kanser

GIS: Gastrointestinal sistem

ÜK: Ülseratif kolitte

NSAİD: Non Steroid Antiinflamatuvar ilaçlar

SMA: Superior mezenterik arter

İMA: İnferior mezenterik arter

SMV: Süperior mezenterik ven

İMV: İnferior mezenterik ven

CIN: Kromozomal İnstabilite

GDP: Guanozin difosfat

GTP: Guanozin trifosfat

CEA: Karsino embriyonik antijen

OS: Genel sağkalım süresi

DFS: Hastalıksız sağkalım süresi

PFS: Progresyonsuz sağkalım süresi

DNA: Deoksiribonükleik asit

CIMP: CPG Ada Metilatör fenotipi

MAPK: Mitojen aktive edici protein kinaz

PI3K: Fosfatidilinozitol-3-kinaz

ÖNSÖZ

Dokuz Üniversitesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı'na bağlı Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'ndaki yandal ihtisasım boyunca çalışma disiplini, işindeki özeni, titizliği ve en önemlisi kişiliği ile her zaman örnek aldığım, ayrıca klinik ve labarotuvan çalışmalarında ve tezimde bana sağladığı katkılar ve yol göstericiliği sebebiyle, beni daima destekleyen Onkoloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. İlhan Öztıp'a en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince her konuda yardımlarını esirgemeyen, kişiliği ve bilgisiyle her zaman kendisini takdir ettiğim, eğitimim süresince her konuda beni daima destekleyen sayın hocam Prof. Dr. Uğur Yılmaz'a teşekkür ederim.

Tüm uzmanlık eğitimim süresince her konuda bana yardımcı olan, palyatif bakım konusunda tecrübelerimin artmasına katkıda bulunan Sayın Doç. Dr. Tuğba Yavuzşen'e ve güleryüzüyle beni hep destekleyen, her zaman bana yol gösteren Sayın Yard. Doç. Dr. Rüksan Çehreli'ye teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca her zaman bilgilerinden yararlandığım, klinik ve poliklinik çalışmalarında verdikleri destek ve eğitimime katkıları sebebiyle Sayın Prof. Dr. Aziz Karaoğlu, Sayın Prof. Dr. Binnaz Demirkan ve Sayın Doç. Dr. Işıl Somalı'ya teşekkür ederim.

Tezim ve yaptığımız diğer çalışmalarda labarotuvan ve istatistik aşamasındaki katkıları sebebiyle DEÜTF Temel Onkoloji Bilim Dalı'ndan Sayın Doç. Dr. Yasemin Baskın'a, Sayın Prof. Dr. Safiye Aktaş'a ve Prof. Dr. Hülya Ellidokuz'a teşekkür ederim.

Yan dal eğitim sürecinin başından itibaren desteklerini benden esirgemeyen birlikte çalıştığım uzman arkadaşlarım Uzm. Dr. Olçun Ümit Ünal, Uzm. Dr. Tuğba Ünek, Uzm. Dr. Tarık Salman, Uzm. Dr. Doğan Koca, Uzm. Dr. Necla Demir, ve Uzm. Dr. Utku Ofıazoğlu'na ve değerli asistan arkadaşlarıma, ayrıca bölümümüzün çok değerli sekreter, personel ve hemşirelerine teşekkür ederim.

Benden sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve tüm eğitimim süresince daima yanımda olan aileme, sevgili eşim Levent Akman'a ve biricik oğlum Mert'e en içten dileklerle teşekkür ederim.

A.ÖZET

METASTATİK KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALARDA KRAS MUTASYON DURUMUNUN KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLER, SAĞKALIM SÜRELERİ VE TEDAVİ YANITLARI İLE İLİŞKİSİNİN RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Tülay Akman

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı

Yazışma Adresi:

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı

35340, Balçova, İzmir

Telefon:+90 232 4124801

E-mail:tulay.akman@deu.edu.tr

Amaç ve Hipotez: Kolorektal kanserde RAS-RAF-MEK-ERK yolağının ardışık aktivasyonunda KRAS ve BRAF mutasyonları önemli rol oynamaktadır. Sporadik Kolorektal Kanserlerin yaklaşık %30-%35'sinde KRAS mutasyonu bulunmaktadır. KRAS'ın farklı tip klinik ve histopatolojik özelliklerle ilişkili olduğunu gösteren veriler ve prognostik bir belirteç olarak kullanılmasının yararı ile ilişkili elde edilen veriler günümüzde halen belirsiz ve çelişkilidir. Bu çalışmada metastatik kolorektal tanısı ile kliniğimizde takip ve tedavi edilen hastaların KRAS genotiplerinin klinikopatolojik özellikler ve sağkalımlarla olan ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır

Yöntem: Bu çalışmamızda 2000-2011 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Onkoloji bölümüne başvurmuş olan, KRAS mutasyon durumu belirlenmiş 115 metastatik kolorektal kanser hastasının dosya kayıtları retrospektif olarak incelendi. Demografik özellikler, klinik ve patolojik özellikler, uygulanan tedavi şekilleri ve sonuçları ile sağkalıma ilişkin verileri kaydedildi. KRAS mutasyon durumu analizi için arşiv parafin bloklarından PCR amplifikasyonu ile DNA dizilme yöntemi kullanıldı. Hastalarda KRAS mutasyon durumuna göre klinikopatolojik özellikler ve sağkalım analizleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Tartışma ve Sonuç: KRAS mutasyon durumu ile tümör lokalizasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanırken, diğer klinikopatolojik özelliklerle anlamlı bir ilişki saptanmadı. Benzer şekilde KRAS mutasyon durumunun genel sağkalım, hastalıksız sağkalım ve progresyonsuz sağkalım süreleri ile de herhangi bir ilişkisi bulunmadı. Sonuç olarak KRAS mutasyon

durumunun klinikopatolojik, sağkalım sũreleri ve prognoz ũzerine etkisi belirsizdir. KRAS mutasyon durumunun erken ve ileri evre kolorektal kanserde sağkalımlarla ilişkili prognostik bir faktũr olarak değerlendirilmesi konusunda literatũrde çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. KRAS mutasyon durumunun klinikopatolojik ũzelliklerle ve prognozla ilişkisi ile ilgili kesin sonuçlara varılabilmesi için spesifik KRAS mutasyon alt tiplerinin ve BRAF mutasyon tiplerinin bilindiği homojen hasta gruplarında yapılacak, geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: KRAS, metastatik kolorektal kanser, prognoz, klinikopatolojik ũzellikler



SUMMARY

Aim: KRAS and BRAF mutations play an important role in colorectal cancer by inducing the sequential activation of RAS-RAF-MEK-ERK pathway. KRAS mutation exists in 30-35% sporadic colorectal cancer. The evidence showing the association between KRAS and different types of clinical and histopathological features are conflicting and indefinite. In this present study we aimed to evaluate the association between the clinicopathological features and survival with KRAS mutation status in the metastatic colorectal cancer patients receiving follow-up and treatment in our clinic.

Methods: In our study we investigated the data of 115 metastatic colorectal cancer patients followed up in our clinic through 2000 to 2011 retrospectively whom the KRAS mutation status was determined. Demographic features, clinical and pathological features, the survival data and types of treatment administered and the responses to the treatments were recorded. DNA sequencing method with PCR amplification was used for the analysis of KRAS mutation status in the archived paraffin sections. The clinicopathological features and survival analysis were compared statistically according to the KRAS mutation status.

Results and Conclusion: While determining significant association between KRAS mutation status and tumor localisation, no significant association was determined between overall survival, disease free survival, progression free survival and KRAS mutation status. There are conflicting results in the literature evaluating the KRAS mutation status as a prognostic factor associated with survival in early stage or advanced colorectal cancer. To identify definite results about the association between clinicopathological features, prognosis and KRAS mutation status, large scaled studies in homogeneous patients with known KRAS mutation status and BRAF mutation are needed

Key words: KRAS, metastatic colorectal cancer, prognosis, clinicopathological features.

B. GİRİŞ VE AMAC

Kolorektal kanser dünyada tüm kanserler içinde üçüncü sıklıkta, ve tüm kanser nedenli ölümler arasında da üçüncü sırada yer almaktadır (1). Kolorektal kanserli hastaların yaklaşık %20-25 kadarı tanı anında metastatik iken, %40-50 kadarı da takip eden süreçte metastatik hale gelmektedir. Metastatik kolorektal kanser (KRK)'in temel tedavisi sistemik tedavi olup, bu amaçla kemoterapötik ajanlar ve son yıllarda kullanıma giren hedefe yönelik ajanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca başta karaciğer metastazları olmak üzere cerrahi rezeksiyona uygun metastazı olan hastalarda metastazektomi yaklaşımları, bunun yanı sıra lokal ablatif tedaviler, hepatik arter infüzyonu, sistemik kemoterapi ile birlikte izole hepatik perfüzyon gibi lökorejyonel tedavi yaklaşımları da uygulanabilmekte ve bu tedaviler de sağkalıma anlamlı ölçüde katkı sağlamaktadır (2).

Kolorektal kanser gelişimi çok basamaklı bir süreç olup proliferasyon, diferansiyasyon, apoptozis ve anjiogenezisi düzenlenmede rolü olan genlerde oluşan kromozomal anormallikler, gen mutasyonları ve epigenetik değişikliklerin etkisiyle kolorektal kanser gelişimi meydana gelmektedir (3,4,5). Bu süreçte epidermal growth faktör reseptör (EGFR) yolağı ile anjiyogenez yolağı gerek tümör davranışında gerekse tedaviye yol gösterme bakımından büyük önem taşıyan iki önemli yolağı oluşturmaktadır. Bu yolaklardan EGFR yolağının aktivasyonunu engelleyen ajanlar son yıllarda metastatik KRK tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. EGFR, HER1 ya da ErbB olarak da bilinir ve ErbB reseptör ailesinin bir üyesidir (6,7). EGFR normal hücrelerin büyümesinde ve diferansiyasyonunda önemli rol oynamaktadır. EGFR sinyalizasyonunun aktivasyonu KRK hücrelerinde sıklıkla meydana gelmekte ve bu durum hücre proliferasyonu, migrasyon ve metastaz, apoptozdan kurtulma ya da anjiogenez ile sonuçlanmaktadır (8).

Kolorektal kanserde büyük önem taşıyan bir diğer moleküler değişiklik de KRAS ve BRAF mutasyonlarıdır. KRAS ve BRAF mutasyonları RAS-RAF-MEK-ERK yolağının ardışık olarak aktivasyonunda önemli rol alırlar (9). Ayrıca bu mutasyonlar metastatik KRK'de kullanılmakta olan monoklonal antikorlar olan setuksimab ve panitumumab gibi anti-EGFR tedavilere yanıtızlıkla ilişkilidirler (10,11,12). KRAS, birçok ekstrasellüler hücrel uyarana yanıtı düzenlemekte rolü olan bir protoonkogendir (13). Sporadik KRK'lerin yaklaşık %30-%35'inde KRAS mutasyonu bulunmaktadır ve KRAS mutasyonlarının %97'si Kodon 12 ve 13'te yer almaktadır. KRAS'ın prognostik bir belirteç olarak kullanılmasının yararı ile ilişkili elde edilen veriler de günümüzde halen belirsiz ve çelişkilidir. Yapılan bir metaanalizde KRAS mutasyonunun negatif prognostik bir belirteç olarak değerlendirilmesi gerektiği ifade edilmesine rağmen, bu özelliğin sadece kodon 12 mutasyonu ile sınırlı olduğu

belirlenmektedir. Diğer taraftan büyük bir çalışma olan PETACC-3 çalışmasında ise prognostik bir değer taşımadığı gösterilmiştir. Benzer şekilde BRAF mutasyonunun farklı tip klinik ve histopatolojik özelliklerle ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmasına rağmen KRAS mutasyonu olan tümörlerde bildirilen sonuçlar çelişkilidir (14,15,16).

BRAF mutasyonları, KRAS mutasyonundan daha az sıklıkla görülür. KKK hastalarının sadece %9-11'inde saptanır ve sıklıkla da mikrosatellit instabilitesi yüksek (MSI-H) tümörlerle ilişkilidir (17). Genel olarak BRAF gen mutasyonlarının potansiyel kötü prognostik etkisi olduğu bildirilmektedir (18). PETACC-3 çalışmasında BRAF mutasyonlarının Mismatch Repair (MMR) MMR/MSI-H tümörlerle ilişkili olduğu ve MMR/Mikrosatellite stabil (MSS) tümörlerde kötü prognozla ilişkisi olduğu gösterilmiştir (19,20). KRAS ve BRAF mutasyonlarının KKK'de klinikopatolojik ve moleküler subgruplarla ilişkisi ve prognostik rolleri ile ilgili elimizde bazı veriler bulunmasına rağmen, aynı analiz yöntemlerin kullanıldığı, geniş çaplı hasta popülasyonlarında gerçekleştirilmiş çalışmaların eksikliği nedeniyle halen tam olarak aydınlatılmış değildir (15).

Bu çalışmada metastatik KKK tanısı ile kliniğimizde takip ve tedavi edilen hastaların KRAS genotiplerinin klinikopatolojik özelliklerle ve sağkalımlarla olan ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

C. GENEL BİLGİLER

KOLOREKTAL KANSERLER

1. EPİDEMİYOLOJİ, İNSİDANS VE MORTALİTE

Kolorektal kanser erkek ve kadında üçüncü sıklıkta görülen kanser türüdür. Erkek cinsiyette kadınlara oranla daha sık görülmektedir. Global olarak her yıl yaklaşık 1,200,000 yeni KRK vakası oluştuğuna inanılmaktadır. Bu sayı bütün kanser vakalarının yaklaşık olarak % 10'unu oluşturmaktadır. Kolorektal kanser dünyada tüm kanser nedenli ölümler arasında da üçüncü sırada yer almaktadır (1). Kolorektal kanser nedeniyle ölenlerin sayısının yıllık 609,000 olduğu tahmin edilmektedir (21). 2010 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) tahmini olarak 141,570 yeni KRK tanısı konulmuş ve 51,370'inde bununla ilişkili ölüm gerçekleşmiştir (22).

Diğerleriyle karşılaştırıldığında KRK insidansını etkileyen en önemli demografik faktör yaştır. Bütün gruplar için sporadik KRK insidansı 45-50 yaş üstünde belirgin olarak artmaktadır. Hemen hemen bütün ülkelerde yaşa bağlı insidans artışı kadınlarda erkeklerden daha azdır. ABD'de ve Kanada'da yaşa bağlı insidans artışında azalma olmasına rağmen Japonya, Kore ve Çin'de ise insidans giderek artmaktadır (21). Genel olarak KRK insidansı ve mortalite hızları sosyoekonomik olarak gelişmiş olan batı ülkelerinde en fazladır (23). Bunun nedeni yüksek yağ ve kırmızı et tüketimi, obeziteyle sonuçlanan fiziksel aktivite azlığı olduğu düşünülmektedir (24).

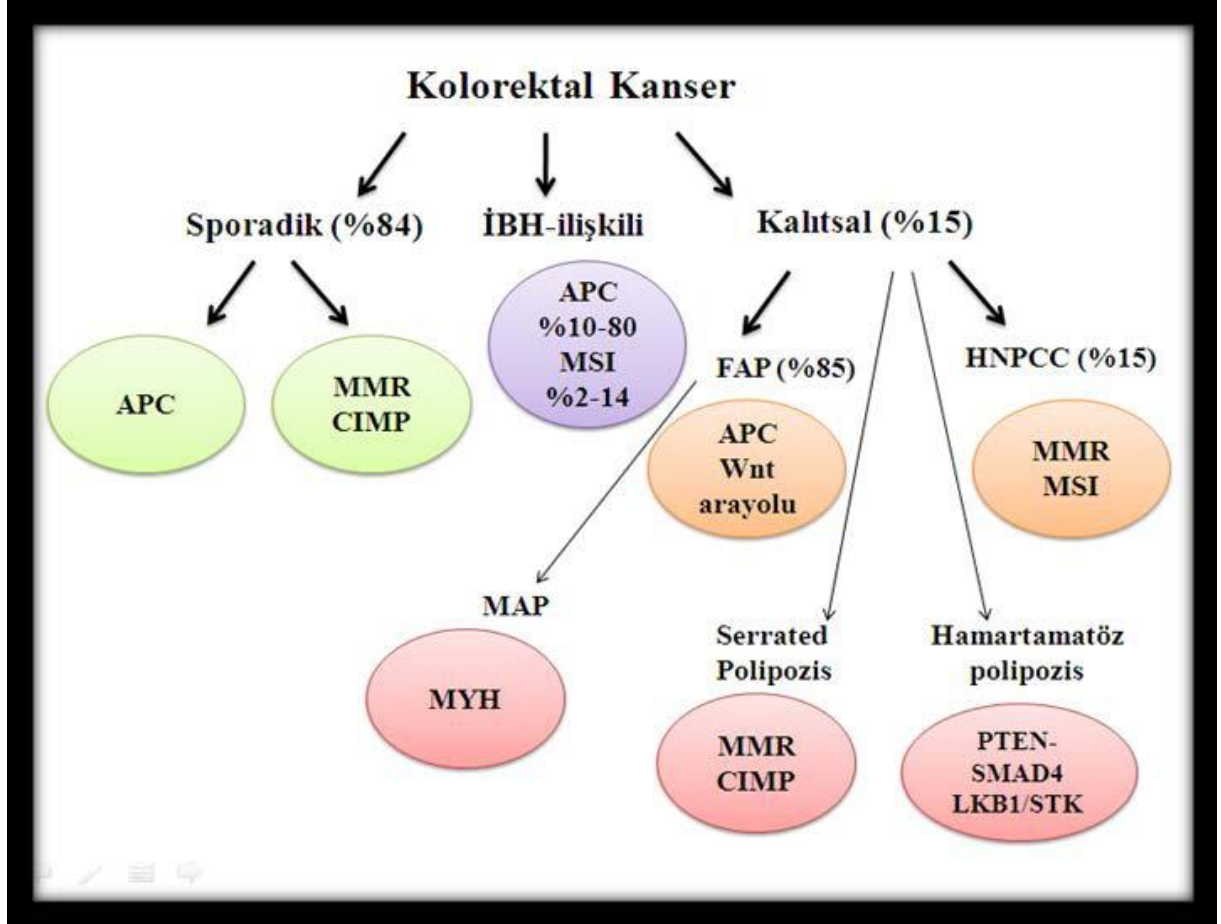
A.B.D'de yaşa bağlı KRK insidansı ve mortalite hızlarında son zamanlarda azalma kaydedilmiştir. 1999'dan 2006'ya kadar KRK insidansı ve mortalitesi azalmıştır. Bununla birlikte 5 yıllık sağkalım oranları artmıştır. Bu sonuçlar cinsiyet, ırk, ve etnik grup farklılığından bağımsızdır. İlk bakışta diyet, yaşam tarzı alışkanlıklarında değişimler ya da kemopreventif ajanların yaygınlaşmasının da katkıda bulunduğu düşünülse de polipektomini ile birlikte yapılan kolonoskopi uygulamalarının yaygınlaşmasının bu sonuçlarda rolü olduğu düşünülmektedir (25).

Ülkemizde kadınlarda KRK, 2004, 2005 ve 2006 yıllarında elde edilen verilere göre meme kanserinden sonra ikinci en sık görülen kanserdir. Erkeklerde ise akciğer prostat ve mesane kanserinden sonra dördüncü en sık görülen kanserdir.

2. ETYOLOJİ

Kolorektal kanser etyolojisinde çok sayıda faktörün rol oynayabileceği düşünülmekle beraber kesin neden bilinmemektedir; genetik, deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar hastalığın kalıtsal ve çevresel faktörlerin biraraya gelmesi sonucu ortaya çıktığını göstermektedir (26).

Kolorektal kanser gelişiminde hem çevresel, hem de genetik faktörler rol oynamaktadır. Genetik yatkınlık, kanser gelişme riskini belirgin olarak artırmakla birlikte KKK'nin yaklaşık % 85'i sporadik tümörler olup, yalnızca % 15'i kalıtsal özellik (Şekil 1) göstermektedir.



Şekil 1. Kolorektal Karsinogeneze Etyolojik Yaklaşım

* Devita Primer of the Molecular Biology of Cancer

I-Kalıtsal Risk Faktörleri

a-Ailesel Polipozis Sendromları (FAP): Tüm KKK insidansının % 1'ini oluşturur. Otuzlu yaşlara kadar hastalarda yüzler ve binlerce polip gelişir ve cerrahi olarak kolon çıkarılmaz ise % 100 hastada KKK gelişir. Retinal pigment epitelinde konjenital hipertrofi, mandibuler osteomlar, epidermal kistler, adrenal kortikal adenomlar, obstrüksiyonlara yol açabilen desmoid tümörler gibi çeşitli benign hastalıklar ve tiroid, mide, ince barsak polipleri, % 5-10 duodenal veya ampulla adenokarsinomu, beyin tümörleri gibi malign hastalıkları içeren ekstrakolonik bulgular ile de ortaya çıkabilir (27). Beyin tümörleri glioblastome multiforme veya medulloblastom şeklinde olabilir. Beyin tümörü ile kolonda polip birlikteliği Turcot sendromu olarak adlandırılmaktadır. Turcot sendromundaki poliplerin sıklığı daha azdır fakat klasik FAP' dakinden daha büyüktürler (28). FAP % 100 penetranslı otozomal

dominant bir hastalıktır. Bununla beraber % 30 hastada aile öyküsü olmaksızın denovo mutasyonlar da saptanmıştır. Karyotipik analizde 5q delesyonu ve sonucunda gelişen 5q21 ile FAP tan sorumlu gen APC (adenomatöz polipozis koli) olarak tanımlanmıştır. FAP hastaları kalıtsal olarak APC gen mutasyonuna sahiptirler, ve bu yüzden erken dönemde polipozis oluşumu meydana gelir. Yaşamları süresince, FAP hastalarında kalan APC gen kopyasında da inaktivasyon oluşur ve bu durum KRK oluşumunu hızlandırır. APC geni 15 exondan oluşur ve yaklaşık 2850 aminoasid tarafından kodlanır. APC genindeki bütün germline mutasyonlar moleküler tanısal yöntemlerle saptanabilir ve hasta ve yakınları için genetik analiz yapılabilir (29).

b-Hereditör Non Polipozis Kolorektal Kanseri (HNPCC): Tüm kolorektal KRK'nin % 3'ünü oluşturmaktadır. Dikkati çeken fenotipik özelliği sağ veya proksimal kolonda 100'e kadar polip içermesidir (nonpolipozis olarak adlandırılır). Tip 1 HNPCC hızla kolorektal kansere progresyon gösterir ve erken yaşta kolon kanser gelişimi ile karakterizedir ortalama kanser ortaya çıkma yaşı 43'tür. Tip 2 HNPCC mide, ince barsak, safra kanalı, renal pelvis, üreter, mesane, uterus, over, deri gibi ekstrakolonik malignite varlığı ile ayırt edilmektedir. HNPCC olgularındaki adenomlar, sporadik vakalar göre daha fazla villöz komponent içerir ve daha displastik olma eğilimindedir. Hayat boyu KRK gelişim riski % 80, endometrial kanser riski % 40, diğer kanserler için % 10'un altındadır (30).

Genel olarak evreye göre sağkalım oranları sporadik KRK vakalarına göre daha iyidir. Muir-torre sendromu HNPCC varyantı olup deri tümörleri ile birliktelik göstermektedir. HNPCC klasik olarak Modifiye Amsterdam kriterleri ile tanımlanmıştır. %80 penetransı olan otozomal dominant bir hastalıktır. Mikrosatellit instabilitesi, HNPCC olgularının % 90'ında ve sporadik KRK vakalarının % 12-15'inde mevcuttur. İnsan DNA MMR genleri ile ilişkisi gösterilmiştir. HNPCC %60 germline mutasyonları hMLH1 ve hMSH2 genlerinden birinde saptanmaktadır. Fakat bu ailenin diğer üyelerindeki mutasyonlar da hMSH6, hPMS1, hPMS2 nadir olarak HNPCC'de görülmektedir. HNPCC için genetik test uygulaması FAP genetik test uygulaması kadar kolay değildir, fakat hMLH1 ve hMSH2 genlerinde sekanslama yapılabilir. MSI testi ve hMLH1/hMSH2 immünohistokimyasal çalışma ile tümör örneklerinde çalışılabilir ve genetik testin başlangıcı olarak kullanılabilir (31). Germline mutasyonu saptanırsa diğer aile üyeleri bu mutasyon açısından genetik olarak taranmalıdır.

c-Hamartamatoz Polipozis Sendromları: Nadir, genellikle pediatrik ve adolesan popülasyonu etkileyen, yıllık KRK insidansının % 1'in altını oluşturan nadir sendromlardır. Peutz jeghers sendromu, gastrointestinal kanama ve obstrüksiyonu ile ortaya çıkabilen, büyük fakat az sayıda kolonik ve ince barsak polipleri ile seyreden ve KRK riskinin arttığı bir

sendromdur. Ayırıcı klinik özellikleri ellerde, yanak mukozasında, dudak çevresinde ve periorbital çillenmelerdir. Sinüs, bronş ve mesane polipleri ile ilişkilidir ve %5–10 hastada seks kord tümörü saptanmıştır. Hastalarda ayrıca akciğer ve pankreas adenokarsinomu gelişebilir. Sorumlu gen serin treonin kinaz olup, LKB1 olarak adlandırılmaktadır. Juvenil polipozis, peutz jeghers sendromu ile klinik olarak çakışan, fakat poliplerin kolonda yerleşme eğiliminde olduğu, nadiren gastrik ve ince barsak poliplerinin de eşlik edebildiği, KRK riskinde artışla seyreden bir sendromdur. Kolorektal kanser riski ortalama % 38'dir ve % 21 üst Gastrointestinal sistem (GİS) kanseri riski vardır. Ekstrakolonik tutulum yoktur. PTEN, SMAD4, BMPR1 gibi germline mutasyonlarla ilişkili olan poligenik bir hastalıktır. Cowden sendromu, gastrointestinal kanalın herhangi bir yerinde hamartamatöz poliplerle karakterize olup sürpriz olarak KRK riskinde artış oluşturmamaktadır. Bununla beraber % 10 hastada tiroid tümörleri, % 50 vakada meme tümörleri saptanabilir. Germline PTEN mutasyonu hastalarda rapor edilmiştir.

d-Juvenil polipozis: Peutz jeghers sendromu ile klinik olarak çakışan, fakat poliplerin kolonda yerleşme eğiliminde olduğu, nadiren gastrik ve ince barsak poliplerinin de eşlik edebildiği, KRK riskinde artışla seyreden bir sendromdur. Kolorektal kanser riski ortalama % 38'dir ve % 21 üst GİS kanseri riski vardır. Ekstrakolonik tutulum yoktur. PTEN, SMAD4, BMPR1 gibi genlerle ilişkili poligenik bir hastalıktır.

e-Ailesel Kolorektal Kanser: Tahmini olarak % 20–30 KRK vakasında, bilinen sendromlardan bağımsız olarak genetik predispozisyon mevcuttur. Aile hikayesi yaşam boyu KRK'e yakalanma riskini arttırır. Birinci veya ikinci derece akrabada KRK öyküsü ve kolorektal kansere yakalanma yaşı gibi ailesel faktörlere bağlı sporadik KRK gelişme riski belirgin olarak artar. En az bir tane birinci derece akrabada KRK varlığı KRK'e yakalanma riskini iki kat arttırır. Ailede bir kişide 60 yaş altında KRK görülmesi de KRK'e yakalanma riskini arttırır (32). Popülasyon grubu değerlendirmelerinde genetik yatkınlığın kolorektal adenom ve sporadik KRK gelişiminde rol oynadığı fakat bu yatkınlığın çevresel faktörlere bağlı değişebileceği saptanmıştır (33). Ayrıca ırk ve etnik gruplara göre farklılık gösterebilen glutatyon-s-transferaz, etilen tetrahidrofolat redüktaz, ve N-asetiltransferaz gibi genetik polimorfizmler de genetik yatkınlıkta rol alabilir.

II- Polipler

Kolorektal kanserlerin % 33'ünün etyolojisinde polip bulunmuştur. Her bir polip için kanser riski polipin boyutlan ve histolojik tipi ile ilişkilidir. Tubuler adenomlar villöz adenomlara göre daha az kanser riski taşımaktadır. Genel olarak 2cm den büyük poliplerin yaklaşık yarısı karsinoma dönüşecektir. Adenom sayısının fazlalığı kanser gelişme riskinin

daha yüksek olacağına işaret etmektedir. En sık görülen polip tipi hiperplastik polipler olup kanserleşmezler. Adenomatöz polipler ise 2. sıklıkta görülen ve neoplastik tipte poliplerdir. Adenomatöz poliplerin % 1'inden azı maligndir; çapı 2 cm'den büyük, sapsız, villöz yapıda, multipl ve displazik özellik gösteren adenomatöz polipler, KRK gelişimi açısından risk oluşturmaktadırlar (34).

III- İnflamatuvar Barsak Hastalıkları (İBH)

İBH'da artmış KRK riski mevcuttur (35). Temel özellikleri nedeniyle ülseratif kolit ve granulomatöz kolit (chron) olmak üzere ikiye ayrılır.

a-Ülseratif Kolit: Spesifik olarak ülseratif kolitte (ÜK) hastalığın süresi, yaygınlığı ve displazi ile ilişkili olarak yüksek KRK riski söz konusudur. ÜK'li olgularda tanıdan 20 yıl sonra KRK riski % 5–10, 30 yıl sonra % 10–20 bulunmuştur. Uzun süreli hastalık ve özellikle pankolit ile risk artışı belirgindir. Senkron kanserler % 10–20 vakada görülebilir (35).

b. Granülomatöz kolit: Chron hastalığı ileokolik bölgeyi veya kolonun sınırlı bir bölgesini etkilemektedir. Kolonik tutulum yokluğunda KRK riskinde artış söz konusu değildir. Kolonik tutulum 30 yaşından önce saptanmış ise risk artmaktadır. Karsinomlar chron hastalığının lokalizasyonu ile ilişkilidir. Chron hastalığındaki intestinal kanserlerin % 73'ü kolon ve rektumda saptanmıştır. Müsinöz adenokarsinomlar chron hastalığında görülen karsinomların üçte birini oluşturmaktadır (35).

IV- Çevresel Faktörler

a-Kalori Alımı, Fiziksel Aktivite ve Obezite: Obesite ve total kalori alımı KRK için bağımsız risk faktörleri olduğu birçok kohort ve olgu-kontrollü çalışmada saptanmıştır. Vücut kitle indeksinde artış KRK riskinde iki kat artışla sonuçlanabilir. Ayrıca yüksek açlık kan şekeri, yüksek insülin düzeyleri ve obezite ile KRK riskinde artış gösterilmiştir (36). Fiziksel inaktivite daha çok kolon kanseri için olmak üzere KRK riskinde artışla ilişkilidir. En son verilerde, evre I-III kolon kanseri tanısı aldıktan sonra fiziksel aktivitenin kanser ilişkili riski ve genel sağkalımı arttırdığı ve evre III kolon kanserinde rezeksiyonu takiben rekürrens riskini azalttığı saptanmıştır (37).

b-Kırmızı Et Tüketimi: Artmış KRK riski ile ilişkili olduğu bilinmektedir (38). Kırmızı et tüketiminin bağımsız bir risk faktörü olduğu bilinmesine rağmen diyetten kırmızı etin tamamen çıkarılması ile ilgili veriler çelişkilidir (39). Yüksek ateşte pişirilmiş et tüketiminin de özellikle rektum kanserinde olmak üzere KRK riskini arttırdığı bilinmektedir. Yüksek proteinli diyet karsinogeneze yol açabilir ve yüksek proteinli diyet artmış epitelyal proliferasyonla ilişkilidir. Kırmızı etteki yağ komponentleri tümör başlatıcı olabilir ve yağlar

luminal bakteriler tarafından kolonik epitelyal proliferasyona yol açan karsinojenlere dönüşebilir (38).

c-Yüksek Lifli Diyet: Afrika’da yüksek lifli diyet KRK’nin düşük insidansı ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarda saptanmıştır (40). Buğday kepeği, meyve ve sebze yüksek lifli besinlerdir. Yüksek lifli diyet fekal karsinojenleri dilüe eder, kolon geçiş süresini kısaltır, ve uygun bir luminal çevre oluşumuna yol açar. Bununla beraber en son yapılan çalışmalarda yüksek lif alımı ile KRK arasında ters bir ilişki saptanmamıştır (41). 34-59 yaşları arasında 90.000 kadın 16 yıl boyunca takip edilmiş ve yüksek lif tüketimi ile KRK ya da adenomatöz polip oluşumu arasında koruyucu bir etki saptanmamıştır. Bu son veriler ışığında diyetle lif tüketiminin KRK gelişimi riski ile ilişkisi olmadığı düşünülmektedir.

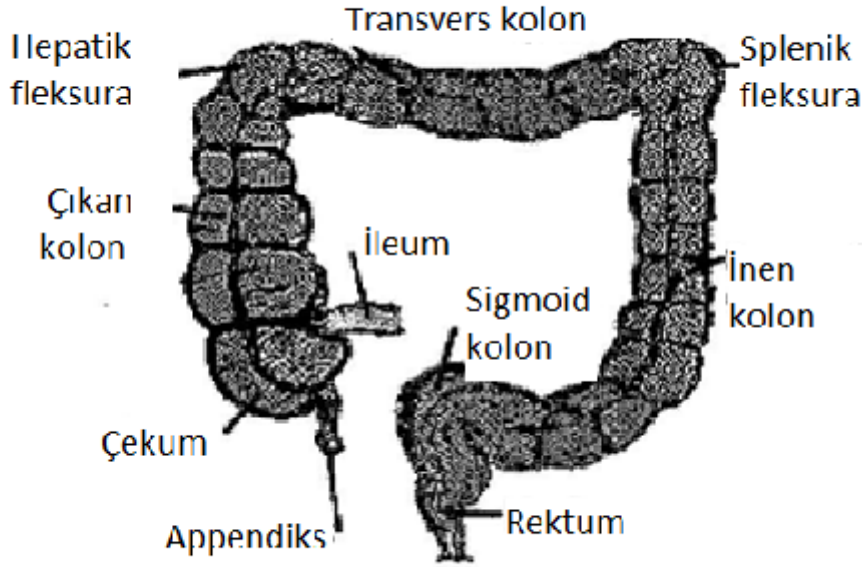
d-Meyve ve sebze tüketimi: Kolorektal kansere karşı koruyucu etkisi olduğu kabul edilmiştir. Antioksidan vitaminler (E, C, ve A), folat, tioeter, terpenler, bitki fenoller, etkin kemopreventif ajanlar olup olmadığını gösteren ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (42).

e-Alkol Ve Sigara Tüketimi: Günlük alkol alımı KRK riskini iki kat arttırmaktadır. Asetaldehid aracılı folat metabolizması bu ilişkiden sorumlu tutulmaktadır. Alkol tüketimi ile özellikle erkeklerde görülen rektal kanseri arasında kuvvetli ilişki mevcuttur (43). Uzamış sigara kullanımı ile KRK riski ilişkilidir. 20 paket yılı aşan sigara içimi büyük adenom riski ile 35 paket yıldan fazla kullanımı ise kanser riskinde artışla ilişkili olduğu saptanmıştır.

f-Non Steroid Antiinflatuvar ilaçlar (NSAİD): Pek çok çalışmada aspirin ve NSAİD kullanımının KRK ve adenom insidansı ile ters ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir kohort çalışmada, NSAİD kullanıcıları kullanmayanlarla karşılaştırıldığında KRK rölative riskinin 0.49 olduğu (95% güven aralığı [CI], 0.24-1.00) saptanmıştır. NSAİD kullanımının özellikle sağ taraflı kolon kanserinde yararlı olduğu bilinmektedir. NSAİD kullanım süresi önemlidir, fakat ilginç olarak kullanılan NSAİD çeşidi önemli değildir. NSAİD’ler ve siklooksijenaz 2 (COX-2) inhibitörlerinin kullanımı, FAP ve sporadik KRK’de yoğun olarak çalışılmaktadır (44).

3. ANATOMİ

Kalın barsaklar yaklaşık 150 cm olup ileoçekal valvden anüse kadar uzanır. Bu mesafe, toplam GİS uzunluğunun hemen hemen 1/5’ ini teşkil eder. Çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum olmak üzere beş bölüme ayrılır. Sağ kolon; çekum, çıkan kolon, fleksura hepaticayı içerecek şekilde transvers kolon başlangıcından, sol kolon; transvers kolonun distali, fleksura lienalis, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşur (45) (Şekil 2). Terminal ileum ile kolon arasındaki geçiş yerine ileo-çekal-valv denir.



Şekil 2. Kalın Barsağın Anatomik Bölümleri

Sağ kolon arteriyel beslenmesini ince barsaklar gibi superior mezenterik arter (SMA), sol kolon arteriyel beslenmesini inferior mezenterik arter (İMA) sağlar. Rektum ve anal kanalın arteriyel beslenmesini ise superior, orta, inferior ve median sakral arterler sağlar. Aynı isimli arterlerin beslediği alanlardaki venöz dönüşü sağlarlar. Sağ kolonun venöz dönüşü superior mezenterik ven (SMV) yoluyla portal vene ulaşırken sol kolonun venöz dönüşü ise inferior mezenterik ven (İMV) yoluyla splenik vene, ordanda portal vene gider. İMV inen kolon, sigmoid kolon ve proksimal rektumu drene eder. Rektumun üst kısmı superior rektal ven aracılığıyla İMV'e drene olur. Bu drenaj portal sistemdir. Orta ve alt bölge ise orta rektal ven ve inferior rektal ven aracılığıyla internal pudental vene oradan da internal iliak ven yoluyla sistemik dolaşıma drene olurlar (46). Kolon ve rektum lenfatikleri arterleri takip eder. Kolorektal lenf drenaj sistemi başlıca 4 gruba ayrılabilir; Epikolik lenf bezleri, parakolik lenf bezleri, Mezokolik intermezenterik lenf bezleri, Mezenter kökü (Temel) lenf bezleri.

4. PATOLOJİ

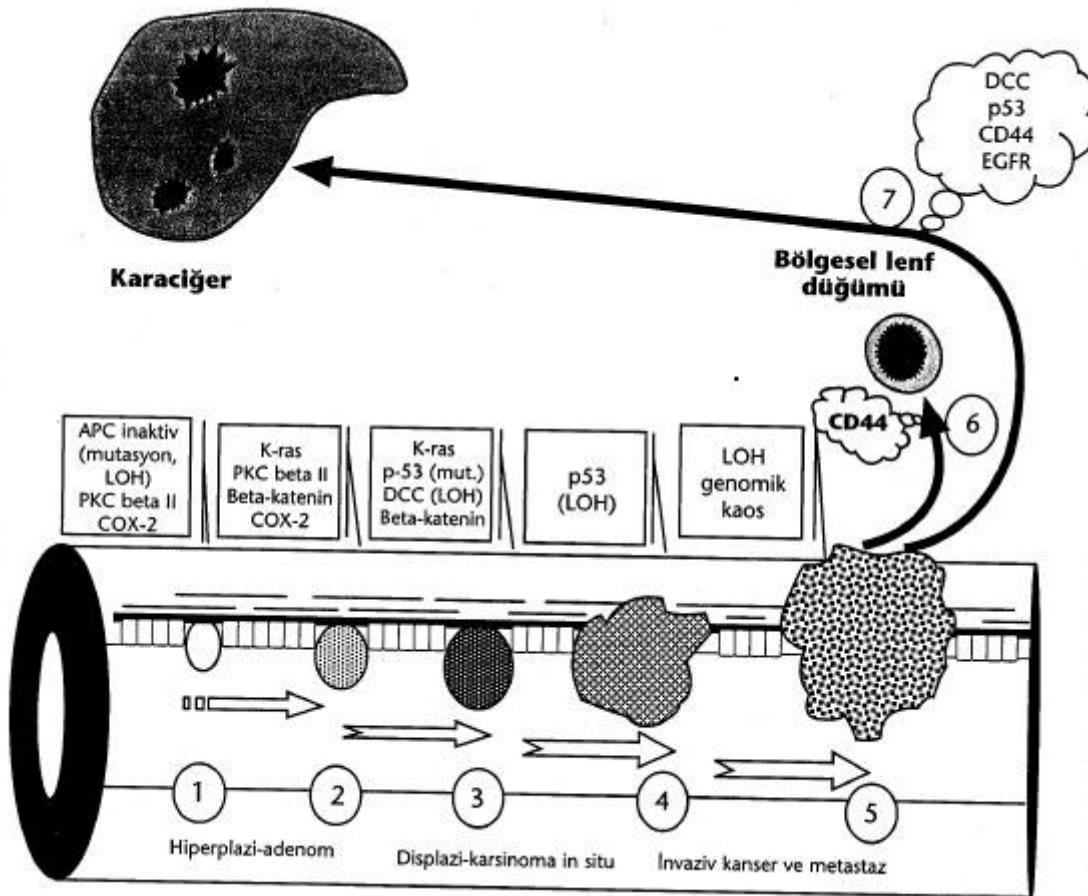
Kolorektal kanserlerin % 85-90'ı adenokarsinom kalan %10-15'lik kısım ise intrasellüler müsin birikimine bağlı müsinöz, ya da kolloid olarak sınıflandırılır. Skuamöz ve adenoskuamöz kanserler ise nadir olarak bildirilmektedir Kolorektal kanserler iyi diferansiye, orta derecede diferansiye ve kötü diferansiye olarak sınıflandırılmaktadır. Kötü diferansiyasyon altta yatan ciddi genetik mutasyonlarla ilişkili olabilir, fakat şu an için kötü

diferansiyasyonla ilişkili mutasyonlar bilinmemektedir. Kolon kanserinin %20'si kötü diferansiyedir ve kötü prognoza sahiptir (47). Müsinöz kolon kanserinin taşlı yüzük hücreli tipinde kanseröz hücreler çok fazla müsin içerir ve çekirdek perifere doğru yer değiştirmiştir. Bu kanser tipi agresif seyreder ve kötü prognozla ilişkilidir (48).

HNPCC ile ilişkili kolon kanseri müsinöz differansiyasyon, belirgin lenfositik reaksiyon ve medüller büyüme paterni gibi sıra dışı histopatolojik özellikler ile ilişkilidir. Önceden andifferansiye karsinom olarak sınıflandırılan kolon kanserinin medüller formu, küçük lenfosit ve glanduler elemanlardan oluşan eozinofilik ve poligonal hücre katmanlarıyla karakterizedir. Kolon kanserinin bu formu yüksek MSI ile ilişkilidir (49).

5. ADENOM-KARSİNOM SEKANSI VE KOLOREKTAL KARSİNOGENEZ

Kolorektal karsinogenez, normal hücrenin malign hücreye dönüşümünde genetik ve epigenetik değişikliklerin rol aldığı çok basamaklı bir süreçtir (Şekil 3). Bu süreçte her basamakta farklı lezyonlar gelişmekte ve böylece moleküler değişimlere farklı morfolojik lezyonlar eşlik etmektedir (50,51).



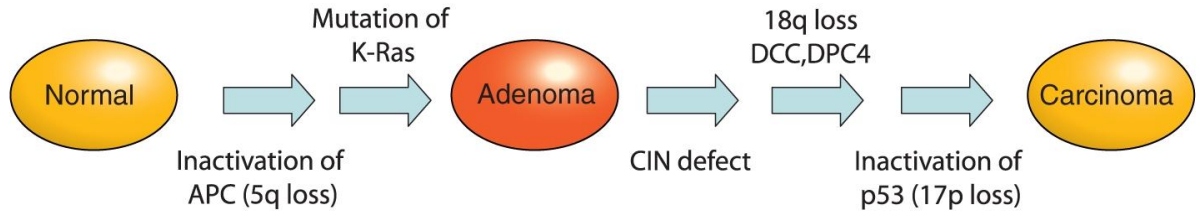
Şekil 3. Kolorektal karsinogenezde Fearon ve Vogelstein modeli

*Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell. 1990 Jun 1;61(5):759-67. Review.

Kolorektal kanser genetik temeli adenom-karsinom dönüşüm basamakları ile benign prekürsör lezyonlardan KRK oluşum modeline dayanır. Hiperplastik poliplerin çoğunluğunda invaziv kanser dönüşüm riski düşük olmasına karşın sessiz (sessile serrated) tipler MSI ile birlikte olan KRK'in öncüsü olabilir (52). Buna karşın adenomatöz poliplerin önemli prekürsör lezyonlar olduğu bilinmektedir ve 1 cm'den büyük olanların 10 yıl içinde %15 adenokarsinoma dönüşme riski vardır. Bu adenomların endoskopik olarak çıkarılmasının KRK insidans ve mortalitesini azalttığı bilinmektedir (53).

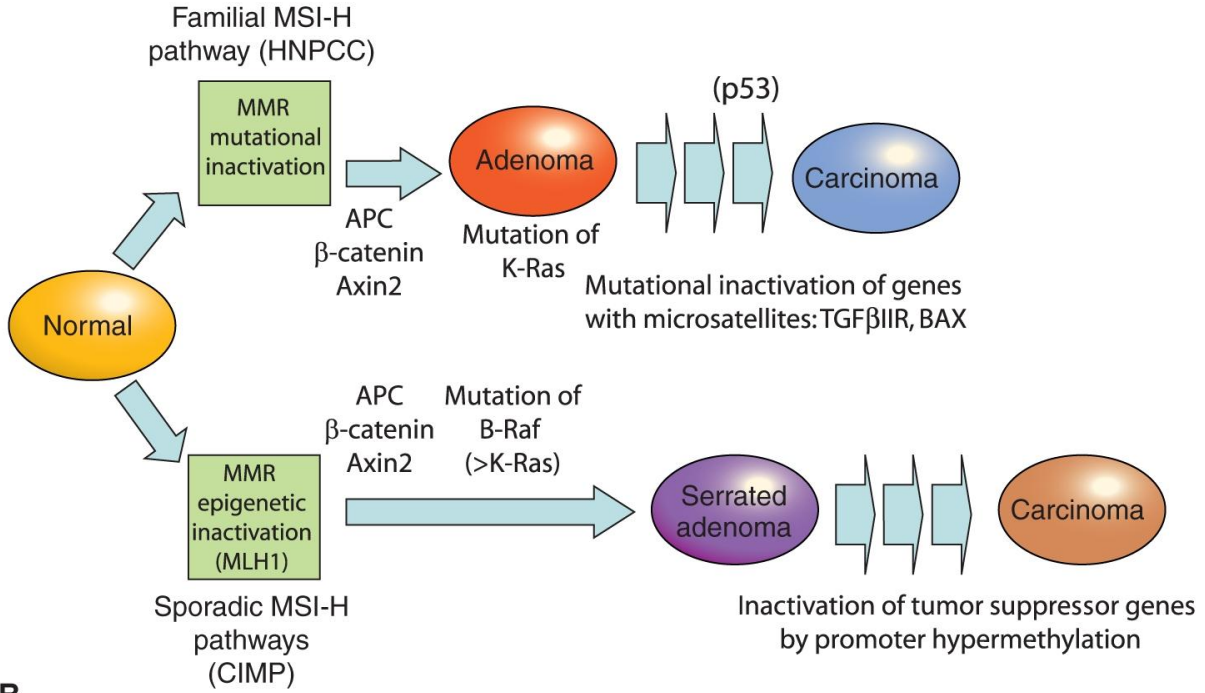
Adenomlar epitelyal aşırı büyüme, displazi, anormal diferansiyasyon, bazen küçük invaziv hücre odakları ile karakterizedir. A.B.D'de adenom prevalansı, 50 yaş için %25, 70 yaş için %50'lere kadar çıkabilmektedir (54). Bunun nedeni adenomların invaziv kansere ilerleme sürecinin bir üç dekat arası sürmesidir (55). Onkogenler, tümör süpresör genleri, ve DNA hasarını önleyen genlerden oluşan üç sınıf gende meydana gelen değişikliklerle tümör oluşumu gerçekleşir. Onkolojik olayların genetik ve epigenetik temele sahip olduğu bilinmesine rağmen, malignensi potansiyelini farklı basamaklarda arttıran somatik mutasyonlar günümüzde daha iyi bilinmektedir (56). Mutasyon tipleri değişebilir ve çoğu tümör her bilinen genetik değişikliği taşımaz. Öte taraftan, belirli mutasyonlar farklı tümör evrelerinde görülebilir (Şekil 4).

Adenom-karsinom oluşum basamakları da göz önünde bulundurulduğunda, bu mutasyonlar, kanserin hücre yaşamı, büyümesi ve invazyonunda rol alan doğal kontrol noktalarında bozulmalarla karakterize çok yönlü bir hastalık olduğunu destekler (57).



A

Copyright © 2011 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins



B

Copyright © 2011 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Şekil 4. Kolorektal Adenom-Karsinom oluşum sürecinde oluşan mutasyonlar ve genetik değişiklikler

* Devita Primer of the Molecular Biology of Cancer

I-Kolorektal Karsinogenezde Moleküler Ara Yollar

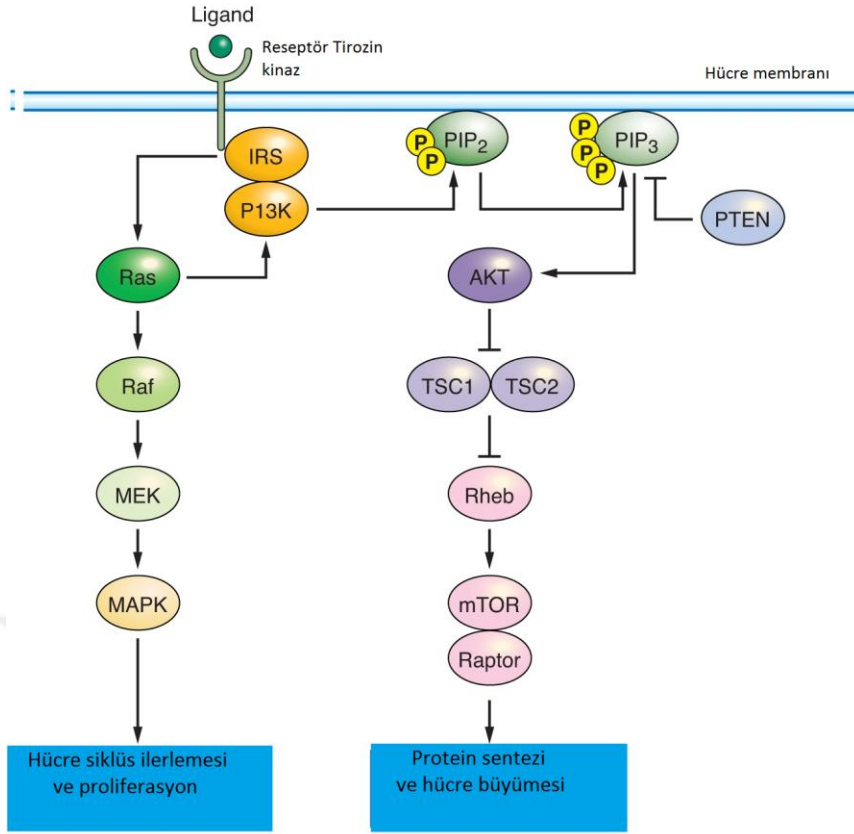
Kolorektal karsinogenezde, patogenetik olarak birbirinden farklı üç ara yolak yer almakla birlikte, bu ara yolların her birinde, birden fazla mutasyonun aşamalı olarak birikimi söz konusudur (Şekil 4). Ayrıca, bu ara yollarda yer alan genler ve oluşan mutasyonların birikim mekanizmaları birbirinden oldukça farklıdır (58). Güncel çalışmalar, KRK'nin %75'inin, Fearon ve Vogelstein'in tanımladığı kromozomal instabilite ara yolu, % 15'inin MSI ara yolu üzerinden geliştiğini, diğerlerinin ise, iki arayolla da ilişkili olmayıp, CpG ada metilasyon fenotipi arayolu üzerinden gelişebileceğini göstermektedir (59,60).

a- Kromozomal İnstabilite ("Chromozomal Instability: CIN") Ara Yolu: Supresör yolak olarak da bilinen bu ara yol, çeşitli onkogen ve supressor genlerde görülen seri mutasyonların birikimi sonucu oluşmaktadır. Delesyon, duplikasyon, kromozomal rearanjman gibi anöploidi ile sonuçlanan genetik değişiklikleri içermektedir (3). Kolon kanserinde

genomik instabilitenin en yaygın tipi olan kromozomal instabilite KRK'in %80'inde bulunan bir özelliktir ve sıklıkla aktive KRAS nokta mutasyonları, p53 ve 18q ve 17p'de yer alan diğer tümör süpresör genlerini içeren bölgelerin kaybı ile ilişkilidir. Bu arayolun morfolojik karşılığı ise adenoma-karsinoma sekansıdır. Adenomatöz poliplerin % 80'i APC gen mutasyonu sonucu meydana gelmektedir. APC proteininin koruyucu bir fonksiyonu vardır ve bu proteinin disfonksiyonu kromozomal instabiliteye yol açmaktadır. Fearon ve Vogelstein'in tanımladığı adenoma-karsinoma modeline göre, adenom gelişiminde, erken dönemde, APC tümör supresör gen mutasyonları gözlenirken, daha ileri evrede KRAS mutasyonları ve maligniteye geçişte ise p53 mutasyonu ile 18q delesyonu söz konusudur (5).

Bu ara yolda 4 önemli sinyal iletim yolağı vardır: WNT, p53, RAS-MAPK ve TGF- β /SMAD. WNT sinyalleri, normal olarak büyümenin regülasyonunda, apoptozda, intestinal kök hücrelerin farklılaşmasında ve kısmen embriyogeneizde etkilidir (61). WNT sinyal ara yolunda yer alan APC proteini, β -katenini parçalayarak sitoplazmadaki miktarını azaltır ve nükleusa geçini engelleyerek büyüme sinyalini durdurur (Şekil 4). APC genindeki "germline" mutasyonlar sonucu FAP sendromu ortaya çıkmaktadır. Sporadik KRK'lerin %80'inden fazlasında somatik hücrelerde APC gen mutasyonu saptanmıştır (62). p53 mutasyonu, insan tümörlerinin yaklaşık %50'sinde görülmekle birlikte, p53'de heterozigotluk kaybı hemen her kanser tipinde ortaya çıkmaktadır (63). p53 proteini normal hücre siklusunu kontrol etmez, ancak, DNA zedelenmesi durumunda ekspresyonu artar ve DNA'ya bağlanarak pek çok genin transkripsiyonunu stimüle eder. Hücre siklusu durunca p53 DNA onarımına yardımcı proteinlerin ekspresyonunu artırır ya da hasar onarılamadıysa hasarlı hücreyi apoptoz ile ortadan kaldırır (64).

RAS-MAPK sinyal ara yolu, hücrede çeşitli hormonlar, büyüme faktörleri, diferansiyasyon faktörleri tarafından uyarılır. Bu sinyal ara yolu, RAS proteininin aktivasyonu ile başlar ve sırasıyla RAF, MEK ve ERK proteinleri aracılığıyla bir kinaz kaskadı oluşur. Ras proteininin aktif hale geçmesi için posttranslasyonel modifikasyondan sonra membrana yerleşmesi gerekir. Hücreye büyüme sinyali geldiğinde, Ras-GTP haline dönüşür. Aktif olan RAS, RAF proteinini harekete geçirerek mitogenez sürecini başlatır (Şekil 5) (65).



Şekil 5: RAS-RAF-MEK- MAPK Sinyal Yolağı

* Devita Primer of the Molecular Biology of Cancer

b- Mikrosatellit İnstabilite (MSI) Ara Yolu

Mutator ara yol olarak da bilinen mikrosatellit instabilite ara yolu (MSI), DNA yanlış eşleşme tamir (“mismatch repair system, MMR”) genlerindeki mutasyonlar sonucu oluşmaktadır ve bu durum yüksek mikrosatellit instabiliteye yol açar (MSI-H). Mikrosatellitler, genom boyunca yer alan kısa nükleotit tekrarlarıdır. Hücre bölünmesinde replikasyon sırasında bu tekrar dizilerinin olduğu kısımlarda DNA polimeraz hata yapabilir. Hata, bir tekrarın atlanması, yanlış baz eklenmesi ya da fazla sayıda tekrar dizisi eklenmesi şeklinde olabilir. Normal şartlarda, DNA polimeraz 3’-5’ ekzonükleaz aktivitesi ile yanlış eşleşmeler düzeltilirken, onarımdan kaçabilen bu alanlar, yanlış eşleşme tamir sistemi aracılığıyla onarılır ve böylece DNA MMR genleri sayesinde replikasyon sürecinde genomik stabilizasyon sağlanır. Ancak MMR genlerinde bir mutasyon olması durumunda MSI olarak bilinen durum ortaya çıkar (66). Kolorektal tümörler, MSI açısından 3 grupta değerlendirilmektedir: Mikrosatellit-stabil (MSS), Yüksek mikrosatellit instabil (MSI-H) ve Düşük mikrosatellit instabil (MSI-L). MSS tümörlerin genetik profili, MSI-L ile çok benzerdir, ancak, MSI-H tümörler oldukça farklı bir profil sergilerler. MSI-L tümörler, sol kolon yerleşimli ve en az MSS tümörler kadar agresif bir gelişim paternine sahiptir. Bu grupta

en sık görülen genetik değişiklikler, KRAS ve p53 mutasyonları ile 5q, 17p ve 18q lokasyonlarında heterozigotluk kaybıdır (58). Lynch Sendromu olarak da bilinen HNPCC Sendromu seyrinde ortaya çıkan tümörlerin %90'ı, sporadik KRK'lerin ise %15-20'si MSI-H olarak tanımlanmıştır. Böylece, MSI açısından HNPCC'de görülen MSI-H ve sporadik olarak görülen MSI-H KRK'ler olmak üzere 2 farklı mutasyon gelişim modeli tanımlanmıştır (50,67) MSI arayolundan gelişen KRK'lere, genellikle serrated poliplerin öncülük ettiği düşünölmekle birlikte, Lynch sendromunda adenom öncölüğünde ya da "de novo" kanserleşme olabileceği görüşü kabul edilmektedir (68,69).

c-"CPG" Ada Metilatör Fenotipi ("CIMP") Ara Yolu

"CpG" adaları, yüksek oranda guanin-sitozin ("guanine-cytosine: GC") dinukleotidleri içeren ve çoğunlukla genin promotor kısmında yer alan genom bölgeleridir. Tüm genomun %1'ini oluştururlar. "CpG" adaları, genlerin promotor bölgelerinde, 5' uçlarında görülür ve birçoğu transkripsiyon bağlanma bölgesi içerir. İnsan promotorlarının %60'ından fazlasında "CpG" adasının yer aldığı saptanmıştır. Promotor bölgelerde görölen "CpG" adaları, normal koşullarda aktif olan bir gende metillenmemiştir. Bu bölgelerin metillenmesi sonucu ilgili gen susturulur ve protein ekspresyonu gerçekleşemez (70). "CIMP" arayoluyla gelişen kolorektal tümörler mikrosatellit instabil ya da stabil olabilir. Bu tümörlerin çoğu, serrated neoplazi sekansında, serrated poliplerden gelişmektedir. Kolorektal karsinomların %20'sinin "CpG" hipermetilasyonu, %20'sinin düşük düzeyde "CpG" metilasyonu gösterdiği %60'ının ise "CpG" metilasyonu göstermediği izlenmiştir (71). Kolorektal karsinomların CIMP durumu, genellikle MSI durumu ile ve KRAS ve BRAF mutasyonları ile ilişkilidir. Buna göre, MSI-H ve BRAF mutasyonu gösterenler, CIMP1 grubu, MSS ve KRAS mutasyonu olanlar ise CIMP2 grubu olarak değerlendirilmektedirler. CIMP (-) olanlar ise genellikle MSS kanserlerdir (58).

Kolorektal karsinogeneizde yukarıda özetlenen moleküler ara yolların gelişim aşamalarında morfolojik olarak farklı lezyonlar ortaya çıkabilmektedir. Bunlardan bazıları bir moleküler ara yola spesifik olarak gelişirken, bazıları ise farklı moleküler ara yolları kullanabilmektedir. Sporadik kolorektal karsinom, kromozomal instabilite arayolu olarak bilinen moleküler yolakta adenomatöz poliplerden, MSI ve "CpG" adası metilatör arayolunda ise çoğunlukla serrated poliplerden gelişmektedir (58).

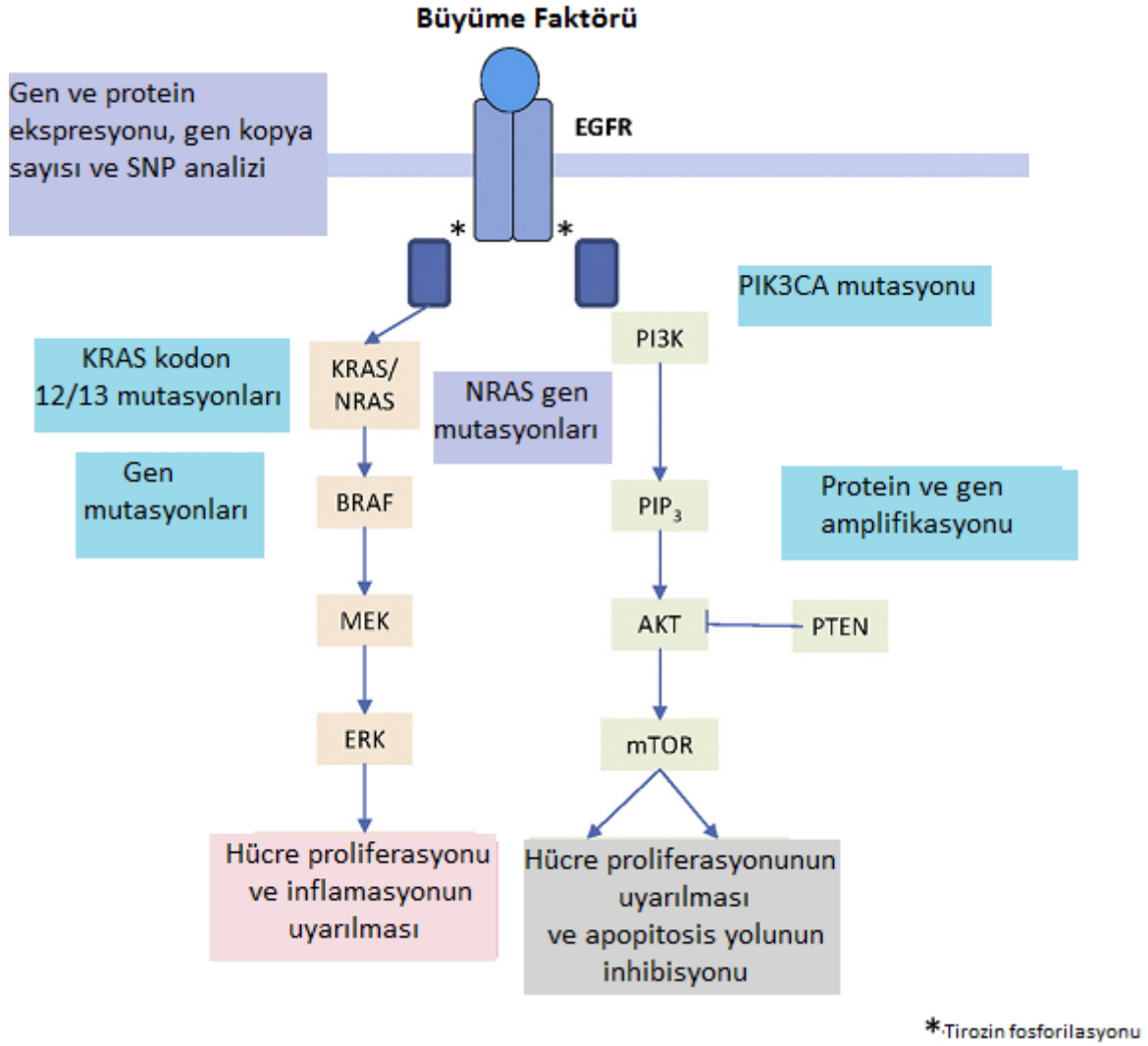
6. KOLOREKTAL KANSER GELİŞİMİNDE ROL ALAN ONKOGEN MUTASYONLARI

I- KRAS, BRAF, ve PIK3CA Onkogen Mutasyonları

Küçük G-proteinlerinden oluşan Ras ailesi büyüme faktör sinyallerinin uyarılar ve çeşitli tip kanserlerde aktive olurlar. KRAS onkogeni RAS gen ailesinin bir üyesi olup, Kirsten Rat Sarkom Virüsü ile hücrel homoloji göstermektedir. KRAS geni, kolorektal karsinom gelişimindeki genetik yollardan biri olan tümör baskılayıcı yolda yer alan bir proto-onkogendir. Kolorektal kanserlerde % 30–35 oranında KRAS mutasyon sıklığından söz edilmektedir (5). En sık olarak nokta mutasyonlar kodon 12 ve kodon 13'te nadiren de kodon 61 ve 146'da gözlenmektedir (72).

Bu mutasyonlar KRK'lerin gelişimi sürecinde erken evrede safhalarda meydana gelir ve tümör progresyonu süresince de korunur. Bu mutasyonlar küçük poliplerde de bulunabilir ve lezyon boyutu arttıkça sıklığı artar (5). Aynı mutasyonların hiperplastik polipler ya da displazi olmayan kript odakları gibi düşük malignite potansiyeli olan lezyonlardaki önemi belirsizdir (73). KRAS mutasyonlarının, adenom oluşum başlangıcında rolü olmamasına rağmen adenom progresyonunda kesinlikle büyük önemi mevcuttur. Ras mutasyonları, adenom gelişiminin intermediate evresi sırasında meydana gelir. Genellikle APC mutasyonlarından sonra görülür. Mutasyonlar büyük, displastik adenomlarda küçük adenomlara göre daha sıktır. KRAS mutasyon sıklığı; 1 cm'den küçük adenomlarda % 10-15, 1 cm'den büyük adenomlarda % 30-60 ve primer kolorektal karsinomlarda yaklaşık %50'dir (74). Bozulmuş mutant KRAS alleleri, kanser hücrelerinde büyümeyi arttırarak kanser oluşum sürecini hızlandırır.

Onkojenik KRAS mutasyonları hücre proliferasyonu, yaşamı, ve metastaz sürecinde rol alan farklı yolları disregüle eder (şekil 5).



Şekil 6. EGFR sinyalizasyon yolağına etki eden mutasyonlar ve sonuçları

PIP3, fosfatidilinozitol(3,4,5)-trifosfat; PTEN, fosfataz ve tensin holomoloğu; NRAS, nöroblastoma RAS gene; SNP, tek-nukleotid polimorfizmi

*Overview of biomarkers in metastatic colorectal cancer: Tumour, blood and patient-related factors. Crit Rev Oncol/Hematol (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2012.06.001>

KRAS aktivitesi normal koşullarda guanozin difosfat(GDP) ve guanozin trifosfat(GTP) bağlı proteinler aracılığıyla kontrol edilmekte olup, GTP'nin bağlanması sonucu aktive olmaktadır. Sitoplazma zarının içinden efektör moleküllere sinyal iletimini sağlayan intrinsek GTP-az aktivitesine sahip bir protein kodlar. Hücre büyümesini ve bölünmesini uyarın herhangi bir dış uyarı ile KRAS geni GTP'ye bağlanır ve aktif hale geçerek uyarıyı hücre içi ileti yollarına aktararak hücre büyüme ve bölünmesinde fizyolojik rol oynar. KRAS mutasyonu ile GTP-az aktivitesi ortadan kalkar ve hücre proliferasyonu düzensizleşir (75).

KRAS, EGFR sinyal yolları ile etkileşim sonucu hücresel fonksiyonların düzenlenmesinde önemli role sahiptir. RAS proteinleri çok sayıda sinyal yolağının düzenlenmesinde rol oynarlar. RAS sinyalinin hedef alt yolları arasında RAF serin treonin kinazlar (ARAF-BRAF-RAF1) ve bunların da aktive ettiği MAPK-ERK yolağı yer alır. RAS aktive olduktan sonra RAF onkogenini harekete geçirmektedir. RAF onkogeni de MAPK 1 ve 2'yi fosforilleyerek hücre büyümesi ve sağkalım ile ilişkili proteinlerin ekspresyonunu arttırmaktadır. Ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinazlar olan ERK-1 ve ERK-2, sıklıkla KRAS mutasyonuna eşlik eder ve mitojen aktive edici protein kinazların (MAPK) aktivasyonunu gösterir. KRAS aracılı büyüme faktörü sinyal kaskadı RAF kinazları plazma membranına toplar ve G1-S hücre siklus değişimini kontrol eden faktörleri fosforile eden ERK1 VE ERK2'yi aktive eden MEK1 ve MEK2 ERK kinazları uyarır. MAPK kaskadını aktive eden KRAS dışı aracılı büyüme faktörleri ile de MAPK kaskadı aktive olmasına rağmen, kanser oluşum sürecinde sinyalizasyon bozulması, temel olarak KRAS ve BRAF mutasyonlarına bağlı oluşur. BRAF KRK'lerin % 5-8'inde mutanttır ve özellikle MSI-H ya da CIMP ile ilişkilidir (76,77).

Yanlış eşleşme tamir sistemi defektli olan KRK'lerde (mikrosatellit instabil), defektli olmayanlara göre çok önemli ölçüde BRAF mutasyonu görülmektedir. Bu nedenle, BRAF mutasyonlarının MMR sistemiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (76). KRK'lerin yaklaşık %10'unda BRAF mutasyonu olduğu saptanmıştır. Ayrıca, karsinoma öncüsü olarak kabul edilen bazı poliplerde de değişen oranlarda BRAF mutasyonu saptanmıştır. Mutasyon sıklığı MLH1 promotor hipermetilasyonundan dolayı MSI'si gösteren KRK'lerde %70'e çıkmaktadır (58).

BRAF onkogeni serin protein kinaz ailesinden RAF'a ait proteini kodlar. Bu protein hücre bölünmesi, diferansiyasyonu ve sekresyonunda önemli olan MAPK/ERK sinyal yolağının düzenlenmesinde role sahiptir. Mutasyonları kalp, yüz ve cilt bozuklukları ile giden sendromlara yol açabilmektedir. Mutasyonlarının aynı zamanda Non hodgkin lenfoma, KRK, malign melanom, tiroid kanseri ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri gibi çeşitli kanserlerle ilişkisi söz konusudur. BRAF ve KRAS mutasyonu MEK ve ERK yollarını fosforile ederek bozulmuş büyümeye yol açar. KRAS ve BRAF mutasyonları KRK'de birbirinden bağımsız olarak hareket ederler fakat iki onkogen birbirlerinin etkilerini aynı sonuca giden farklı yollardan ortak hücresel yolağa doğru güçlendirirler (76). Bununla beraber BRAF-mutant KRK'lerin prognozu KRAS-mutant tümörlere göre daha kötüdür ve bu da ayırıcı özellikleri olduğunu göstermektedir. MAPK kaskadı ile birlikte , KRAS sinyali, intrasellüler

3. pozisyonundaki lipid fosfatidil-inositol-4,5-bifosfatı fosforilleyen, fosfatidilinozitol 3-kinaz yolağı aracılığıyla hücre büyümesi ve yaşamını destekleyen kaskadı uyarır (78). KRK'lerin %15-30'unda fosfatidilinozitol-3-kinaz'ın (PI3K) alt birimi olan katalitik p110'u kodlayan PIK3CA aktive edici mutasyonlar saptanır. Çoğu mutasyon ekson 9 ve 20'de yer almaktadır ve muhtemelen invazyon süreci ile ilişkilidir. RAS proteini aynı zamanda PI3K aktivasyonu aracılığıyla mTOR aktivasyonuna katkıda bulunabilmektedir. PIK3CA mutasyonları KRAS-mutant KRK'de yaklaşık %10 görülür. Mutant KRAS PI3K sinyalizasyonunu etkisiz olarak aktive edebilir (79). Aslında açık bir şekilde RAF-MEK VE PI3K aracılığıyla olan KRAS sinyalizasyonunun paralel yolları, yaygın olarak bir diğeriyle etkileşir, ve özellikle her iki yolda hücre büyümesinde etkin rol alan mTOR'u düzenler. Bununla beraber KRAS mutasyonu diğerkanser tiplerinde de sıklıkla saptanabilmektedir. Pankreas kanserinde %90'ın üzerinde, küçük hücre dışı akciğerkanserinde, %20-30 arasında, diferansiye tiroid karsinomlarında %8 ve kötü differansiye ya da anaplastik tiroid kanserinde %50-55, myeloid lösemilerde %30 oranında kras mutasyonu görülebilir (80). Bu kanserler içinde özellikle KRAS geni mutasyonları diğerkas genlerine (NRAS ve HRAS) oranla daha sık görülmektedir. Mutasyonların sıklığı üç ras genine muntazam olarak dağılmamıştır. Her ne kadar mutant HRAS ilk olarak keşfedilmiş olsa da daha sonra yapılan yoğun çalışmalar KRAS ve NRAS mutasyonlarının insan kanserlerinde daha sık görüldüğü ortaya çıkmıştır. Mutant KRAS geni pankreas, kolon ve akciğerkanserlerinde daha yaygın iken, mutant NRAS geni daha çok hematopoetik neoplazmalarda görülür.

Hedefe yönelik monoklonal antikorlar, kanser tedavisinde son yıllarda önemli yer tutmaktadır. Bir tirozin kinaz reseptörü olan EGFR, KRK hücrelerinin büyüme ve sağkalımları ile ilişkili yolların önemli bir düzenleyicisidir. KRAS mutasyonu setuksimab direnci için prediktif bir gösterge olarak kabul edilmekte olup metastatik KRK'lerde KRAS mutasyonu olmayan tümörlerde setuksimab tedavisine iyi yanıt alınmaktadır. Bu nedenle KRK'de KRAS genindeki mutasyon varlığının gösterilmesi, hastaların prognozunu ve moleküler hedeflenmiş tedavilere cevabı belirlemede önemli hale gelmiştir (81).

Yapılan çalışmalarda setuksimab direnci için sorumlu olası mekanizmalardan bir diğeri de BRAF mutasyonu varlığıdır. BRAF geninde en sık görülen mutasyon V600E mutasyonu olup KRK vakalarında % 0–12,5 arasında gözlenmektedir. Yine KRAS mutasyonu taşımayan ancak setuksimaba yanıt vermeyen hastaların % 10'unda BRAF mutasyonu sorumlu tutulmaktadır.

7. KOLOREKTAL KANSER TANISI ve KLİNİK BULGULAR

Kolorektal kanser ile ilişkili semptomlar alt GİS kanaması, barsak alışkanlığında değişiklik, karın ağrısı, kilo kaybı, iştah değişikliği, halsizlik ve alarme edici obstrüktif semptomlar olabilmektedir. Bununla beraber obstrüktif semptomlar dışında, diğer semptomlar hastalığın evresi ya da spesifik tanıyla uyumlu olmayabilir. Fizik bakıda palpabl kitle, parlak rektal kanama (genellikle sol kolon ve rektum kanserlerinde) veya melana (genellikle sağ kolon kanserlerinde), daha az kanamalarda gaitada gizli kan testinde pozitiflik saptanabilmektedir. Lenfadenopati, hepatomegali, sarılık veya pulmoner yakınmalar metastatik hastalık göstergesi olabilmektedir. Obstrüksiyon, özellikle sigmoid veya sağ kolon tümörlerinde gözlenip abdominal distansiyon ve konstipasyon ile kendini gösterirken, sağ kolon tümörleri daha sinsi seyretmektedir. Kolorektal kanserin komplikasyonları; akut GİS kanaması, akut obstrüksiyon, perforasyon ve metastaz ile uzak organ fonksiyonlarında bozulmayı içermektedir. Laboratuvar testlerinde demir eksikliği anemisi, elektrolit dengesizliği ve karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluk saptanabilmektedir. Karsino embriyonik antijen (CEA) düzeyleri yükselebilir ve çoğunlukla ameliyat sonrası izlemde yararlıdır. Genellikle cerrahi sonrası düzeyi normale dönmektedir. Değerlendirme tam bir öykü, aile hikâyesi ve fizik muayeneyi içerir. Beraberinde laboratuvar testleri, kolonoskopi ve primer tanı sonrası metastatik hastalık şüphesi var ise tüm vücut tomografisi yapılmalıdır.

Tanı ve evreleme tamamlandıktan sonra medikal onkolog, radyasyon onkoloğu ve cerrahi onkologlardan oluşan multidisipliner ekip tarafından tedavi planı belirlenmelidir. Yeni moleküler biyolojik tekniklerin gelişmesiyle dışkı bazlı ve serum bazlı testlere yönelmiştir. Dışkıdan genomik DNA ya da protein eksrakte edilmesi ve genetik değişikliklerin analizi şu andaki teknoloji ile mümkündür (82). Dışkı bazlı tanısal yaklaşımlarla hastalar yüksek, orta ve düşük riskli olarak sınıflandırılabilir. Bu konuda birçok validasyon çalışması halen sürdürülmektedir.

8. KOLOREKTAL KANSER TARAMASI

Tarama yöntemleri asemptomatik bireylerde KRK ve prekürsörlerinin araştırılmasını içermektedir. Tarama tekniği hızlı ve basit olmalıdır. Hasta uyumunun artırılması için tarama tetkiklerinin yararlılığı fazla, sensitif, spesifik ve uygun maliyetli olmalıdır. Bu faktörler göz önüne alındığında son zamanlarda optik kolonoskopi en etkin ve en sensitif tarama yöntemi olarak görülmektedir. Direkt görüntüleme ve poliplerin çıkarılabilmesi gibi avantajları ve hazırlık gerektirmesi, perforasyon da dahil (%1'den az) potansiyel yan etkileri dezavantajları olarak sayılabilir. Genel fiziki muayenenin bir parçası dijital rektal muayene mutlaka

yapılmalıdır. Anorektal kitleler bu şekilde palpe edilebilir. Fleksible sigmoidoskopi sedasyon gerektirmez ve rektum, sigmoid kolon, ve splenik fleksuraya kadar inen kolonun görüntülenebilmesini sağlar. Fleksible sigmoidoskopi tek başına tarama metodu olarak kullanılmamakla birlikte baryum enema tetkikiyle kombine yapılmalıdır. Baryum enema tetkiki ile tüm kolon görüntülenebilir. Hazırlık aşaması daha kolaydır, sedasyon, hemodinamik görüntüleme gerekmez, polipleri ve kitleleri görüntüleyebilir. Bununla beraber küçük polipleri saptayabilir. Eğer luminal bir polip ya da kitle tesbit edilirse kolonoskopi biyopsi ya da polipektomi için gereklidir.

Yeni noninvaziv teknikler büyük klinik araştırmalarda halen incelenmektedir ve bu çalışmaların ilk sonuçları etkinlik konusunda bilgi sağlayacaktır. Bu çalışmalarda Bilgisayarlı tomografi (BT)-kolonografi (sanal kolonoskopi) ve manyetik rezonans(MR)-kolonografi yöntemleri kullanılmıştır (83). Son yapılan bir çalışmanın sonucunda sanal kolonoskopinin kullanılabilirliğinin uygun olduğu gösterilmiştir fakat daha büyük çalışma sonuçlarına ihtiyaç vardır (84).

9. PROGNOZ

Amerikan Patologları Koleji (CAP) KRK'de çok sayıda prognostik ve prediktif faktörün validite ve kullanılabilirliğini ana hatlarıyla özetleyen bir konsensus raporu yayınlamıştır (85). Değişkenler kategori I'den kategori IV'e kadar sınıflandırılmıştır. Kategori I, birçok, istatistiksel olarak güçlü, yayımlanmış çalışmalarla elde edilmiş kanıtlara dayanan ve genellikle hasta yönetiminde kullanılan faktörleri tanımlamaktadır. Kategori IIA, biyolojik ya da klinik yoğun olarak çalışılmış, prognostik değeri ve tedavi için prediktif değeri olduğu defalarca gösterilmiş, fakat halen istatistiksel olarak valide edilmesi gereken faktörleri içermektedir. Kategori IIB, birçok çalışma sonucunda gelecek vadeden fakat kategori I ya da IIA'ya dahil olmak için gerekli veri eksikliği olan faktörleri içermektedir. Kategori III, prognostik değerinin belirlenmesi için şu ana kadar yeterli miktarda çalışılmamış faktörleri içermektedir. Kategori IV ise yeteri kadar çalışılmış ve prognostik önemi olmadığı gösterilmiş olan faktörleri içermektedir. Son AJCC evereleme sisteminde yer alan T, N, M sınıflaması kategori I'dir. Diğer kategori I faktörler kan, ya da lenfatik damar invazyonu ve cerrahiye takiben kalan rezidüel tümör (R kategorisi) miktarıdır. Patolojik olarak değerlendirilmemiş olsa da, preoperatif CEA düzeyinin artışı da kategori I olarak sınıflandırılmıştır. Kategori IIA, tümör derecesini, radyal marjın durumunu ve neoadjuvan tedavi sonrası rezeksiyon materyalinde rezidü tümör miktarı yeralmaktadır. Kategori IIB, histolojik tip, MSI ilişkili histolojik özellikler (ör: tümöre lenfoid yanıt, medüller ya da müsinöz histolojik tip), yüksek MSI derecesi (MSI-H), 18q heterozigosite kaybı (DCC [deleted in colon cancer] gen kaybı),

tümör sınırı konfigürasyonu faktörlerini içermektedir. Kategori III, DNA içeriği, 18q/DCC dışında kalan moleküler belirteçler, MSI-H, perinöral invazyon, mikrodamar yoğunluğu, tümör hücre-ilişkili proteinler ya da karbohidratlar, peritümöral fibrozis, peritümöral inflamatuvar yanıt, fokal nöroendokrin differansiyasyon, nükleer organize edici bölgeler ve proliferasyonu içermektedir. Kategori 4’de ise tümör boyutu ve gros tümör konfigürasyonu bulunmaktadır. Kolorektal kanserlerde en önemli prognostik faktör hastalık evresidir. Serozal yayılım ve 4’den fazla lenf nodu tutulumu ileri evre göstergesi olup kötü prognoz ile ilişkilidir. Evrelere göre 5 yıllık sağkalım oranları değişiklik göstermektedir. Sağkalım oranları sırasıyla; Evre 0’da % 90, Evre I’de % 75, Evre II’de % 70–85, Evre III’de % 55–70 ve Evre IV’de % 25 olarak bildirilmektedir.

10. EVRELEME

Rekürrens ve sağkalımı etkileyen çeşitli faktörler olmasına karşın, hiçbirinin hastalık evresi kadar prognoz üzerine etkisi yoktur. Kolorektal kanserlerin prognozunu belirleyen en önemli faktör tümörün evresidir. Bugüne kadar evreleme amacıyla birçok sınıflama yapılmış ve kullanılmışsa da günümüzde ‘‘The American Joint Commitee On Cancer (AJCC) tarafından oluşturulan TNM (Tümör-Nod-Metastaz) Sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır (86). TNM sınıflamasında invazyon derinliği (T), lökorejyonel lenf nodu sayısı (N), uzak metastatik hastalık varlığı ya da yokluğu temelleri esas alınarak kolorektal tümör sınıflaması yapılır. Tablo 1’de AJCC’nin kolorektal kanserler için TNM sınıflaması gösterilmektedir. TNM sınıflaması ile diğer evreleme yöntemleri ile eşleştirilmesi tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 1: Kolorektal Tümörlerde TNM Sınıflaması

T Primer Tümör

Tx: Yayılım derinliğinin belirlenemediği tümör

T0: Klinik olarak tümör yok.

Tis: Karsinoma insitu ve intramukozal (lamina propria içinde).

T1: Tümör submukozaya invazedir.

T2: Muskularis propria tutulmuştur.

T3: Seroza ve adventisya tutulmuştur.

T4: Periton boşluğu ve komşu organlara invazyon vardır.

N Bölgesel Lenf Bezi Tutulumu

Nx: Lenf bezi tutulumu değerlendirilemiyor.

N0: Lenf bezi tutulumu yok.

N1: 1-3 bölgesel lenf nodunda metastaz var.

N1a: 1 bölgesel lenf nodunda tutulum var.

N1b: 2 ya da 3 bölgesel lenf nodu tutulumu var.

N1c: Lenf nodlarında bulunmayan fakat subseroza, mezenter, ya da nonperitoneal perikolik ya da perirektal dokularda tutulum var.

N2: ≥ 4 bölgesel lenf nodu tutulumu var.

N2a: 4-6 bölgesel lenf nodu tutulumu var.

N2b: ≥ 7 bölgesel lenf nodu tutulumu var.

M Uzak Metastaz

Mx: Değerlendirilmemiş.

M0: Bilinen uzak metastaz yok.

M1a: Bir uzak organ ya da uzak lenf nodu grubuna yayılım var.

M1b: Birden çok uzak organa ya da uzak lenf nodu grubuna ya da peritona yayılım var.

Tablo 2: Anatomik evreleme ve prognostik gruplar

Stage	T	N	M	Dukes	MAC
0	Tis	N0	M0	-	-
I	T1	N0	M0	A	A
	T2	N0	M0	A	B1
IIA	T3	N0	M0	B	B2
IIB	T4a	N0	M0	B	B2
IIC	T4b	N0	M0	B	B3
IIIA	T1-2	N1/N1c	M0	C	C1
	T1	N2a	M0	C	C1
	T3-T4a	N1/N1c	M0	C	C2
IIIB	T2-T3	N2a	M0	C	C1/C2
	T1-T2	N2b	M0	C	C1
	T4a	N2a	M0	C	C2
IIIC	T3-T4a	N2b	M0	C	C2
	T4b	N1-N2	M0	C	C3
IVA	Any T	Any N	M1a	-	-
IVB	Any T	Any N	M1b	-	-

11. TEDAVİ

I- Cerrahi

Kolon kanserinin primer tedavisi, tümörlü barsak ansının, komşu mezenterin ve direne olan lenf nodlarının cerrahi olarak çıkarılmasıdır. Tümörün yerleştiği anatomik bölgeye göre rezeksiyon yapılmaktadır. Sağ ve sol kolon tümörlerinde hemikolektomi, sigmoid kolon tümörleri için geniş sigmoid rezeksiyon yapılmaktadır (87). Rektum kanserlerinin cerrahisinde 3 farklı yöntem uygulanabilmektedir; aşağı anterior rezeksiyon (LAR), rektumun üst ve orta bölümündeki tümörlerde, abdominoperineal rezeksiyon (APR), levatör ve sfinkteri içeren tümörlerde ve koloanal anostomoz ile birlikte total proktektomi ise rektumun alt kesiminde yerleşen fakat levator ve sfinkteri içermeyen tümörlerde yapılabilmektedir. Periton

tutulumu, batında asit varlığı, yaygın hepatik metastaz varlığı ve yaygın akciğer metastazı varlığında palyatif cerrahi tedavi yapılır. Ancak; soliter akciğer ve karaciğer lezyonlarında küratif rezeksiyon yapılması doğru bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir.

II. Radyoterapi

Kolorektal kanserler için primer tedavi cerrahi olmakla birlikte, tek başına cerrahi sonrası nüks oranlarının yüksekliği sebebiyle yardımcı tedavi yöntemleri gündeme gelmiştir. Kolon kanseri için daha nadir olmakla beraber lokal nüks özellikle rektum kanserlerinde bölgenin kanlanma özelliği sebebiyle sıklıkla ve sağkalımı olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle kolon kanseri tedavisinde radyoterapi uygulanmazken, rektum kanseri için birincil önem taşımaktadır. Rektum kanserlerinde preoperatif radyoterapinin, cerrahi sırasında meydana gelebilecek olası tümör hücre ekilimini önlemek, tümör hacminin küçültülmesi ile rezektabilitenin artması ve abdominoperineal rezeksiyon yerine sfinkter koruyucu cerrahiye olanak sağlaması gibi faydaları vardır. Bununla birlikte preoperatif radyoterapi uygulanmamış hastalara postoperatif radyoterapi standart yaklaşımdır.

III. Kemoterapi

Evre 0 ve evre 1 kolon kanserinde adjuvan tedaviye gerek yok iken, evre 3 kolon kanseri için adjuvan kemoterapi standart yaklaşım olmuştur. Evre 2 hastalık için ise belli durumlarda kemoterapinin yararı ortaya konmuştur.

a. Evre III Kolon Kanserinde Adjuvan Kemoterapi

Bolus Kemoterapi: Kolon kanseri adjuvan kemoterapisi konusunda başta 5-fluorourasil (5FU) ve düşük doz folinik asitin kombinasyon tedavileri olmak üzere birçok kemoterapötik ajanla ilgili çalışmalar yapılmıştır. Yapılmış olan büyük çalışmalardan sonra kolon kanserinin adjuvan tedavisinde iki kombinasyon kemoterapisi kullanılabilir olarak gündeme gelmiştir. Birincisi 5 FU ile yüksek doz folinik asitin kombine edilerek (Roswell Park rejimi) toplam 4 siklusun uygulandığı (8 ay) protokol, diğeri ise 5 FU ve düşük doz folinik asitin kombine edilerek (Mayo rejimi) 6 siklusun (6 ay) uygulandığı protokoldür (88).

İnfüzyonel Kemoterapi: Bolus 5 FU ve folinik asit uygulaması ile infüzyonel 5 FU ve folinik asitin karşılaştırıldığı, 905 yüksek riskli evre 2 ve evre 3 kolon kanseri tanımlı hastanın dahil edildiği GERCOR çalışmasında, iki grup arasında hastalıksız sağkalım ve tüm sağkalım karşılaştırıldığında fark saptanmamıştır. Bu çalışmada aynı zamanda 24 haftalık kemoterapi uygulaması ve 36 haftalık kemoterapi uygulaması karşılaştırıldığında, iki grup arasında fark gösterilememiştir. Diyare, mukozit ve

nötropeni, infüzyonel kemoterapi grubunda, bolus kemoterapi grubuna göre daha az saptanmıştır (89). Bu çalışma sonucunda yan etki oranının düşük olması, daha iyi tolere edilebilir olması sebebiyle, infüzyonel 5 FU ve folinik asit kombinasyonu özellikle Avrupa’ da kullanılmaya başlanmıştır.

Oral Fluoropirimidinler: Oral kemoterapötik ajanların kullanıldığı çalışmalardan 1987 evre 3 kolon kanseri tanılı hastanın iki kola randomize edildiği çalışmada, altı ay boyunca bir kola bolus 5-FU ve folinik asit (Mayo rejimi) diğer kola kapesitabin oral olarak uygulanmıştır. Kapesitabin grubunda daha az yan etki, daha uzun hastalıksız sağkalım gösterilmiştir. Tüm sağkalım açısından iki grup arasında fark gösterilememiştir (90). 1561 evre 2 ve evre 3 kolon kanseri tanılı hastanın 5 FU-yüksek doz folinik asit ve oral urasil-tegafur ve folinik asit kombinasyonlarına randomize edildiği NSABP C06 çalışmasında, 5 yıllık hastalıksız sağkalım ve tüm sağkalım her iki kolda eşit olarak saptanmıştır. Bu çalışmalardan sonra oral fluoropirimidinlerin, bolus 5-FU ve folinik asit kombinasyonu kadar efektif olduğu gösterilmiştir.

Kombinasyon Kemoterapisi: Oksaliptatin ve irinotekanın 5 FU ile kombine edildiği metastatik KRK tanılı hastaların dahil edildiği çalışmalarda elde edilen sonuçlardan sonra bu ajanların kombine edildiği adjuvan kemoterapi çalışmaları yapılmıştır. 2246 evre 2 (hastaların % 40’ı) ve evre 3 kolon kanseri tanılı hastanın dahil edildiği MOSAIC çalışmasında hastalar iki kola randomize edilmiştir. Bir kola infüzyonel 5 FU ve folinik asit diğer kola ise oksaliptatin, infüzyonel 5 FU ve folinik asit uygulanmıştır. 56 aylık izlem sonunda hastalıksız sağkalımın oksaliptatin kolunda (% 76,6) diğer kola göre (% 69,8) belirgin üstün olduğu gösterilmiştir ($p<0,001$). Evre 3 hastalarda istatistiksel olarak anlamlı relaps riskinde azalma (%8,6) saptanırken, evre 2 hastalar değerlendirildiğinde relaps riskinde azalma (%3,5) saptanmıştır ancak fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 3 yıllık izlemde oksaliptatin içeren ve içermeyen grup arasında tüm sağkalımda fark gösterilememiştir. Yan etkiler değerlendirildiğinde oksaliptatin içeren kolda nötropeni ve periferik nöropati daha yüksek oranda saptanmıştır (91). Bolus 5 FU-folinik asit ve oksaliptatin–5 FU- folinik asit kombinasyonunun karşılaştırıldığı NSABP C07 çalışmasına 2407 evre 2 ve evre 3 kolon kanseri tanılı hasta dahil edilmiş, 3 yıllık hastalıksız sağkalım oranı oksaliptatin içeren kolda daha yüksek olarak saptanmıştır ($p=0,004$). Bu çalışma ile MOSAIC çalışması sonuçları desteklenmiştir. 1264 hastanın bolus 5 FU-folinik asit ve 5 FU-folinik asit-irinotekan koluna randomize edildiği CALGB 89803 çalışmasında,

irinotekan kolundaki tedavi ile ilişkili ölüm oranlarındaki yükseklik nedeniyle çalışma erken kapatılmıştır. Ortalama 2,6 yıllık izlemde, hastalıksız sağkalım ve tüm sağkalım, her iki kol arasında farklı saptanmamıştır (92). İnfüzyonel 5 FU-folinik asit ile irinotekan kombinasyonunun karşılaştırıldığı ACCORD 2 çalışmasında hastalıksız sağkalım her iki kol arasında benzerdi. Bu çalışmalardan sonra kolon kanseri adjuvan tedavisinde, 5-FU ve irinotekan kombinasyonunun efektif bir rejim olmadığı görüşü hâkim olmuştur. Yapılan çalışmalar sonrasında evre 3 kolon kanseri adjuvan kemoterapisinde 5 FU ve folinik asit kombinasyonu kullanılabilir bir rejim olarak kabul edilmiştir. 6–8 aylık kemoterapi ile 12 aylık kemoterapi arasında fark olmadığı saptanmıştır. 5 FU ve folinik asit kombinasyonuna levamisol eklenmesinin, hastalıksız sağkalım ve tüm sağkalım oranlarını değiştirmedeği saptanmıştır. Bolus rejimler ile infüzyonel rejimlerin karşılaştırılmasından sonra sağkalım oranlarının farklı olmadığı buna karşılık yan etki oranlarının infüzyonel rejimde daha az olması sebebiyle, daha tolere edilebilir olması nedeniyle infüzyonel 5 FU ve folinik asit kullanılmaya başlamıştır. Oral fluoropirimidinler ile yapılan çalışmalar sonrasında en az 5 FU kadar efektif oldukları gösterilmiştir. Parenteral kemoterapötikler için uygun olmayan hastalar için oral fluoropirimidinlerin kullanımı daha çok gündeme gelmiştir. Metastatik hastalıkta elde edilen yanıt oranlarından sonra 5 FU ve oksaliplatin/irinotekan kombinasyonu ile yapılan çalışmalar sonrasında, oksaliplatin ve infüzyonel 5-FU ve folinik asit kombinasyonu kullanımı ön planı çıkmıştır. Metastatik hastalıkta yapılan çalışmalarda monoklonal antikorlar ile ilgili veriler elde edilmeye başladıktan sonra, adjuvan kemoterapide bu ajanların kullanımı ile ilgili çalışmalar başlamıştır.

b. Evre II Kolon Kanserinde Adjuvan Kemoterapi

Evre II KKRK’de adjuvan kemoterapinin faydasını değerlendiren birçok çalışma bulunmaktadır. Bütün bu çalışmalar bir arada değerlendirildiğinde evre II kolon kanseri tanılı hastalarda adjuvan kemoterapi rutin olarak önerilmemektedir. T4 tümör, obstrüksiyon, perforasyon, kötü diferansiye histoloji, 10’dan az lenf nodu eksizyonu yapıldığı durumlarda evre 2 kolon kanserinde adjuvan kemoterapi önerilmektedir (93).

c. Rektum Kanserinde Adjuvan Kemoterapi

Evre 2 ve evre 3 opere rektum kanseri tanılı hastaların 4 kola randomize edildiği GITSG çalışmasında gözlem kolu, radyoterapi kolu, kemoterapi koluna göre radyoterapi ve kemoterapinin kombine kullanıldığı kol üstün bulunmuştur. Evre 2 ve evre 3 rektum kanserinde radyoterapi ve kemoradyoterapinin karşılaştırıldığı bir diğer çalışmada,

kombinasyon kolunda relaps riskinde %47 azalma, mortalite riskinde %29 azalma saptanmıştır (94). Bu konuda yapılmış birçok çalışma sonucunda, evre 2 ve evre 3 opere rektum kanseri tanılı hastalara 5 FU bazlı kemoradyoterapi ve sonrasında 5 FU bazlı kemoterapi ile devam edilmesi önerilmektedir (95).

d. Metastatik Kolorektal Kanserde Kemoterapi

Kolorektal kanser hastalarının yaklaşık % 30-40'ı tanı anında metastatik hastalığa sahiptir. İzole karaciğer metastazlı hastalar potansiyel olarak kürabl olabilmekle birlikte, diğer vakaların büyük çoğunluğunda cerrahi ile kür sağlanamaz. Cerrahi şansı olmayan metastatik KRK hastaları için tedavi palyatif olup, genellikle sistemik kemoterapiyi içermektedir. Uzun yıllar boyunca fluoropirimidinler (prototipi 5-FU) metastatik KRK için tek aktif ajan olarak kalmıştır. Bu durum 2000 yılından sonra yeni ajanların onay alması ile belirgin olarak değişim göstermiştir. Bu ajanlar irinotekan, okzaliplatin, VEGF'e karşı geliştirilen bevasizumab ve EGFR'ne karşı geliştirilen setuksimab ve panitumumab'tır. İrrezektabl metastatik KRK'li hastalarda tek başına en iyi destek bakım ile medyan sağkalım 5–6 aydır. Sistemik kemoterapi beş yıllık sağkalım oranlarını anlamlı olarak düzeltmese de, ortalama sağkalım ve progresyonsuz sağkalım oranlarında anlamlı düzelme sağlayabilmiştir. Bu yarar en fazla irinotekan veya okzaliplatinin 5-FU ile kombine edilmesiyle elde edilmiş olup, medyan sağkalım süresi 20 aya ulaşmıştır. Bazı çalışmalarda 24 ay ile en yüksek sağkalım oranları bildirilmiştir. Bazı evre 4 metastatik KRK özellikle irrezektabl izole karaciğer metastazlı hastaları uygun kemoterapi sonrası operasyon şansını yakalayabilmesini sağlamıştır. Hedefe yönelik tedavi yaklaşımları da sağkalımı anlamlı derecede iyileştirmiştir (96).

Kemoterapiye başlama zamanı: Metastatik kolorektal kanser hastalarının bir kısmı asemptomatiktir. Kemoterapiye erken başlamak ile semptom gelişinceye dek geciktirme konusunda tartışmalar söz konusu olup bu konu ile ilgili çalışmalar farklı sonuçlar bildirmektedir. Asemptomatik 182 metastatik KRK'li hastayı içeren randomize çalışmada metotreksat/5-FU/Folinik asit içeren kemoterapi protokolünün erken uygulanması ile medyan sağkalım (14 ay ve 9 ay), semptomsuz dönem süresi ve progresyonsuz sağkalım sürelerinde anlamlı düzelme sağlamıştır. Buna karşılık erken tedavinin yararının olmadığını gösteren 168 asemptomatik metastatik KRK'li hastayı içeren iki çalışmanın meta analizinde, erken ya da gecikmiş 5-FU temelli kemoterapi araştırılmıştır. Erken tedavi ile istatistiksel anlama ulaşmayan 2 aylık sağkalım avantajı sağlanmıştır (13 ay vs 11 ay) (97).

Tedavi süresi: Kemoterapinin hangi rejim olduğuna bakmaksızın optimal tedavi süresi tartışmalıdır. 354 hastalık bir çalışmada ilk hat tedavi ile 12 hafta

sonunda progresyon göstermeyenler iki kola randomize edilmiştir. Bir grubun tedavisi kesilirken, diğer kolda tedavi hastalık progresyonuna kadar devam edilmiştir. Tedavisi kesilen kolda progresyon durumunda aynı tedavi yeniden başlanmıştır. İntermittan grup için ortalama tedavisiz kalma süresi 4,3 ay bulunurken, tedaviye devam edilen kola göre anlamlı daha az yan etki gözlenmiştir. Tüm sağkalım her iki grup arasında benzer iken, objektif yanıt oranı intermittan kolda, yeniden aynı tedavi uygulandığında başlangıca göre yarı yarıya azalma göstermiştir (% 41 / % 21). 333 hastalık bir diğer çalışmada 5-FU dirençli metastatik KRK'li hastalarda irinotekan monoterapisi uygulanmıştır. 6 ay sonunda progresyonsuz hastalar iki kola randomize edilmiştir. Toplam 55 hastadan 30 hastada tedavi kesilirken, 25 hastada progresyona kadar devam edilmiş ve iki grup arasında yanıt oranı, tüm sağkalım ya da yaşam kalitesi açısından fark gösterilememiştir (98). Diğer yandan 6 siklus okzaliptin temelli FOLFOX-7 ile progresyonsuz devam eden hastalarda, tedavisiz interval yerine 5-FU-LV ile tedaviye devam edilmesinin en azından progresyonsuz sağkalım açısından yararlı olduğu OPTIMOX-2 çalışmasında belirtilmiştir. Yine GISCAD çalışmasında intermittan FOLFIRI uygulaması ile sürekli uygulama karşılaştırıldığında benzer sağkalım sonuçları elde edilmiştir (99). Sonuç olarak kemoterapiye yanıt veren hastalarda optimal tedavi süresi, özellikle kemoterapisiz interval bırakmanın yararı tartışmalı olarak kalmıştır. Meme kanserinde olduğu gibi en iyi yanıt elde edildikten sonra 1-2 siklus daha tedaviye devam edilebileceği gibi, özellikle tedaviyi iyi tolere eden olgularda tedaviye devam etmek de uygun bir seçenek olabilir.

Kemoterapi seçenekleri: Fluoropirimidinlerin prototipi olan 5-FU yaklaşık 40 yıldır metastatik KRT tedavisinde kullanılmaktadır. İnfüzyonel 5-FU için sitotoksitenin primer mekanizmasının timidilat sentetaz inhibisyonu aracılığıyla DNA sentezinin hasarlanması olduğu düşünülmektedir. Fluoropirimidinler aynı şekilde RNA sentezini de inhibe ederler ve bu etki mekanizması bolus 5-FU rejiminin antitümöral etkisine katkıda bulunmaktadır. Fluoropirimidinler hızla inaktif ürünlere metabolize olurlar. Metabolizmasında kritik role sahip dihidropirimidin dehidrogenaz (DPD) enziminin aktivitesinin hastalar arası etkinlik varyasyonlarını ve toksisite farklılıklarını oluşturmaktadır. Örneğin DPD yokluğu ciddi, potansiyel olarak fatal komplikasyonlara yol açabilmektedir. Tek ajan 5-FU'nun infüzyonel ve bolus uygulanmasını karşılaştıran metaanalizde infüzyonel tedavi ile daha yüksek yanıt oranları ve daha uzun sağkalım sağlanmıştır (100). Gastrointestinal toksisite benzer iken bolus uygulama ile belirgin daha fazla grade 3-4 hematolojik toksisite (özellikle

nötropeni) gözlenmiştir. El-ayak sendromu ise infüzyonel tedavi ile daha sık gözlenmiştir. Lökoverin, timidilat sentetaz ile 5-FU arasında oluşan stabil olmayan kompleksin stabilitesini arttırarak enzim inhibisyon süresini ve buna bağlı olarak 5-FU'nun sitotoksitesini arttırmaktadır (101). İki farklı meta-analizde, tek başına bolus 5-FU ile karşılaştırıldığında kombine tedavi ile 2 kat daha fazla yanıt oranı elde edilmiştir (%21 - %11) (102). Lökoverin ile modüle 5 FU'nun irinotekan ve okzaliptatin gibi ajanlarla kombinasyon rejimlerinin geliştirilmesine kadar 5-FU/LV rejimi metastatik kolorektal kanser için ilk hatta standart tedavi olarak kabul görmüştür. Halen üçlü ilaç rejimlerini tolere edemeyen hastalarda kullanımı devam etmektedir. Bununla birlikte optimal doz ve şema halen tartışmalıdır. Lökoverin ile 5-FU modülasyonu çeşitli şemalar ve dozlarda çalışılmış olup en yaygın olanları Mayo Klinik ve Roswell Park (RPMI) rejimleridir (103). Bu protokol incelendiğinde genel olarak 28 günde bir uygulanan Mayo Klinik rejimi ile daha fazla nötropeni ve stomatit gözlenirken, haftalık uygulama şemasına sahip RPMI ile daha fazla diyare gözlenmektedir. Beş günlük bolus tedavi kadınlarda daha toksik gözükmemektedir. Metastatik hastalıkta düşük doz lökoverin ile yüksek doz lökoverin bir çalışmada değerlendirildiğinde düşük doz lökoverin içeren rejim ile daha uygun toksisite profili gözlenmiştir (104). Standart MAYO rejimi ile DeGramont rejimini (infüzyonel FUFA) karşılaştıran çalışmada infüzyonel rejim ile anlamlı olarak daha iyi yanıt oranı ve daha iyi progresyonsuz sağkalım elde edilirken, medyan sağkalımın infüzyonel tedavi lehine anlamlı olma eğiliminde olduğu bulunmuştur. İnfüzyonel tedavi ile yine daha az hematolojik ve GİS toksisitesi gözlenmiştir (105). Oral fluoropirimidinler metastatik KRK'in tedavisinde sık olarak kullanılmaktadır. Bunlardan kapesitabin, intestinal duvardan absorbe olduktan sonra üç ardışık enzimatik reaksiyon ile 5-FU'ya dönüşür. Son basamaktaki enzim timidin fosforilaz olup normal dokuya göre tümör hücrelerinde belirgin olarak daha yüksek düzeyde bulunur. Bu da artmış tümör hücre selektivitesi ve daha iyi tolerabilitesinin temelini oluşturur. İki büyük benzer tasarımlı 602 ve 605 hastalık randomize çalışmada; ilk hat metastatik KRK'de kapesitabin monoterapi, Mayo rejimi ile benzer etkinlikte bulunmuştur (106). Diğer bir oral kemoterapötik olan UFT, Tegafur ve Urasilin 4/1 oranında kombinasyonunu içerir. Yarışmalı olarak 5-FU degradasyonunu inhibe ederek plazma ve tümöral dokuda konsantrasyonuna neden olur. Bu oral aktif prodrug Mayo rejimi ile benzer etkinliğe sahiptir. Tek ajan olarak yanıt oranı % 25 iken, 150mg/gün LV ile birlikte kombine

edildiğinde yanıt oranı %40 olarak bildirilmiştir. Doz sınırlayıcı toksisitesi diyare, miyelosupresyon ve el-ayak sendromudur.

Kombinasyon rejimleri: Faz-3 randomize çalışmalarda irinotekan ile 5-FU/LV kombinasyonunun yalnız 5-FU/LV'e göre sağkalım yararı gösterilmiştir. Bunlardan Avrupa çalışmasında daha önce tedavi almamış 387 metastatik kolorektal kanser tanılı hasta irinotekan/5-FU/LV ve 5-FU/LV olarak iki kola randomize edilmiştir. Üçlü tedavi kolu haftalık ya da 14 günde bir Douillard'ın FOLFIRI rejimi şeklinde uygulanırken, ikili tedavi kolu 14 günde bir DeGramont rejimi şeklinde uygulanmıştır. İrinotekan kolunda anlamlı olarak daha yüksek yanıt oranı, yine daha uzun progresyona kadar geçen süre ve ortalama sağkalım elde edilmiştir. Bununla birlikte irinotekan kolunda grade 3–4 diyare ve nötropeni daha fazla görülmüştür. Bir başka Avrupa çalışmasında haftalık infüzyonel 5-FU/LV'e irinotekan ilavesinin sağkalıma etkisi 430 ileri evre KRK'li hasta üzerinde araştırılmış ve benzer şekilde irinotekan kolu anlamlı olarak daha iyi yanıt oranı ve progresyonsuz sağkalım avantajı gösterirken, medyan sağkalım farkı görülmesine karşın istatistik anlamlılığa ulaşamamıştır (107). Avrupa çalışmalarının aksine, Amerikan çalışmaları üçlü kombinasyonlarda daha kullanışlı olan bolus 5-FU/LV (Saltz rejimi, İFL) tercih etmekte olup, bu uygulamanın kısa süreli infüzyonel 5-FU/LV rejiminden (FOLFIRI) daha fazla toksisiteye yol açtığı görülmüştür. İrinotekan/Kapesitabin kombinasyonu (XELİRİ) yoğun olarak çalışılmıştır. XELİRİ, FOLFİRİ ve Modifiye İFL'i karşılaştıran 430 hastalık CALGB çalışmasının sonuçlarında FOLFİRİ koluna göre XELİRİ ile anlamlı derecede daha fazla bulantı, kusma, diyare, febril nötropeni ve dehidratasyon gözlenmiş, yine istatistik anlamlı olacak şekilde daha kötü progresyonsuz sağkalım gözlenirken medyan sağkalımda da XELİRİ'nin daha kötü olma eğiliminde olduğu görülmüştür. Randomize BICC-C çalışmasına 430 hasta dahil edilmiş, ve FOLFİRİ, XELİRİ, mofiyeye İFL tedavisi düzenlenerek 3 gruba ayrıldı. Elde edilen sonuçlarda XELİRİ rejiminin sonuçlarının daha kötü olduğu saptandı (108). İlk sıra tedavide bire bir okzaliptatin/5-FU/LV ve irinotekan/5-FU/LV karşılaştıran çalışmalar benzer sonuçlar bildirmektedir. Goldberg ve arkadaşlarının yaptığı Amerikan çalışmasında okzaliptatin/5-FU/LV rejiminin bolus İFL rejimine sağkalım üstünlüğü gösterilmiştir. Bununla birlikte, iki büyük Avrupa çalışmasında kısa süreli infüzyonel FOLFİRİ ile karşılaştırıldığında bu yarar gösterilememiştir (109). Okzaliptatin içeren kemoterapi rejimlerinde tedavi süresini belirleyen en önemli faktör doz sınırlayıcı bir yan etki olan kümülâtif sensoryal nöropatidir. Uzun dönemde

aralıklı okzaliplatinsiz intervaller bırakılması ile nörotoksisitenin hafifletilebileceği ile ilgili olarak Avrupa OPTİMOX-1 çalışması düzenlenmiştir (110). 620 hasta iki kola randomize edilmiştir. İlk kol FOLFOX-4 rejimini 14 günde bir hastalık progresyonuna dek alırken, ikinci kolda ise FOLFOX-7 rejimi 6 siklus uygulandıktan sonra 12 siklus okzaliplatinsiz idame rejimi ile devam edilmiş, hastalık progresyonu durumunda yeniden okzaliplatinli rejim uygulamasına geçilmiştir. Bu uygulama ile başlangıç yanıt oranları FOLFOX-4 ve FOLFOX-7 için eşit bulunmuştur. Medyan 31 aylık izlem sonunda ortalama sağkalım ve progresyonsuz sağkalım süreleri, yeniden okzaliplatin başlandığında düşük objektif yanıt oranına rağmen iki grup için benzer bulunmuştur. Bunun da ötesinde okzaliplatinsiz interval bırakılan kolda istatistik olarak anlamlı olarak 6-18 siklus süresince daha düşük grade 3-4 toksisite gözlenmiştir. Bu çalışmanın ardından kısa süreli idame 5-FU/LV ile kemoterapisiz intervali karşılaştırmak amacıyla randomize Faz-2 OPTİMOX-2 çalışması dizayn edilmiştir (111). 200 hasta 6 siklus FOLFOX-7 sonrası tedavisiz izlem ya da 5-FU/LV ile idame koluna randomize edilmiş, progresyon durumunda yeniden FOLFOX-7 başlanmıştır. Randomizasyon anından itibaren medyan progresyonsuz sağkalım 5-FU/LV ile idame kolunda anlamlı olarak daha uzun iken, kemoterapi başlangıcından itibaren yeniden FOLFOX-7 kullanımı sonrası progresyona kadar geçen süre olarak tanımlanan hastalık kontrol süresi istatistik anlamlılık kazanmamıştır. OPTİMOX çalışmalarına dayanarak, ilk hat FOLFOX 6 siklus uygulama sonrası stabil yanıt yada objektif cevap elde edilenlerde, özellikle de iyi prognostik özellik taşıyan vakalarda (PS 0-1, normal LDH, ALP üst limitin 3 katından daha düşük, tek metastatik bölge) tedaviye ara verilmesi önerilebilir. Bu yaklaşım belirgin olarak periferik nöropati riskini minimize eder. Alternatif olarak toksisite gelişene kadar tedaviye devam edilmesi bir seçenek olabileceği gibi, tedavinin kesilmesinden rahatsızlık duyan hastalarda 5-FU/LV ile idame de tercih edilebilir. CAPOX ya da XELOX olarak adlandırılan ve sinerjistik etkileşimi bilinen kapesitabin ile okzaliplatin kombinasyonu ilk hat tedavide yoğun olarak araştırılmıştır. TREE-1 çalışmasında tedavi almamış 147 metastatik KRK'li hasta modifiye FOLFOX-6, XELOX ya da bFOL (bolus) koluna randomize edilmiştir. FOLFOX ve XELOX kolları arasında saptanan yanıt oranı, progresyona kadar geçen süre ve medyan sağkalım farklılıkları istatistik olarak anlamlı fark saptanmamıştır (112). Toksisite profiline bakıldığında en yüksek grade 3-4 GİS toksisitesi XELOX kolunda görülürken, nötropeni FOLFOX-6 kolunda fazla gözlenmiştir. Özet olarak XELOX metastatik KRK'li hastalarda ayaktan infüzyon

tedavisi uygun değilse ya da istenmiyorsa tercih edilebilir. Eldeki güncel veriler XELOX kemoterapisi infüzyonel 5-FU/oksaliptatin ile karşılaştırıldığında antitümör etkinliğinin aynı olduğunu fakat toksisitenin daha fazla görüldüğü belirtilmiştir.

Hedefe Yönelik Tedaviler: Epidermal büyüme faktörü (EGF), Vasküler endotel kökenli büyüme faktörü (VEGF) ve/veya onların reseptörlerinin KRK hücrelerinin otokrin/parakrin proliferasyonunda veya anjiogenez ve metastaz gelişiminde rol oynadıkları gösterilmiştir. İki monoklonal antikor Anti-VEGF (Bevasizumab) ve Anti-EGFR (Setuksimab) halen metastatik KRK tedavisinde kullanılmaktadır.

-Bevasizumab: İrinotekan ya da oksaliptatinin 5-FU/LV ile kombinasyonuna bevasizumab eklenmesi ile umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte bu gelişmeler tedavi ile ilişkili kanama, hipertansiyon, barsak perforasyonu ve tromboembolik olaylar gibi komplikasyonlara bağlı olarak sağlık harcamalarında belirgin artışa yol açmıştır.

-Bevasizumab-İrinotekan/5-FU/LV: Bevasizumabın irinotekan/bolus 5-FU/LV(İFL) rejimine eklenmesi ile %48 objektif yanıt oranı elde edilmiştir. Ancak bu çalışmada %50'ye yakın kanama komplikasyonu ve %10 oranında tromboembolik komplikasyonlar gözlenmiştir. Klinik yararın görülmesi sebebiyle Hurwitz tarafından 813 hastalık randomize İFL+/- Bevasizumab çalışması tasarlanmıştır (113). Bevasizumab grubunda istatistik anlamlı olacak şekilde daha yüksek objektif yanıt oranı, daha uzun progresyona kadar geçen süre ve daha uzun medyan sağkalım elde edilmiştir. Gastrointestinal perforasyon ve grade-3 hipertansiyon bevasizumab kolunda daha fazla iken trombotik olay oranı her iki kol arasında benzer bulunmuştur. Yine grade 3-4 kanama gelişen hasta yüzdeleri arasında da anlamlı bir fark saptanmamıştır. İFL ile kombine bevasizumab kullanımı, FOLFİRİ ile bevasizumab kombinasyonunda belirgin olarak daha uygun GİS toksisite profili elde edilmesi sebebiyle geri planda kalmıştır. FOLFİRİ-bevasizumab kombinasyonunun etkinliği randomize CALGB çalışmasında 430 hasta üzerinde FOLFİRİ, modifiye İFL, XELİRİ ile birlikte araştırılmıştır bu çalışmada medyan progresyonsuz sağkalım bevasizumab-FOLFİRİ kombinasyonu ile 9.9ay iken, medyan sağkalım süresine 61 hastalık küçük grup olması sebebiyle erişilememiştir. 61 hastanın dahil edildiği BICC-C

çalışmasında bevasizumabın önceden tedavi almamış KRK'de FOLFİRİ, mofiyfe IFL, yada XELİRİ ile kombine edilmesinin belirgin yanıt oranı ve sağkalım farkı yarattığı saptanmıştır. 1927 hastanın dahil edildiği BEAT çalışmasında önceden tedavi görmemiş hastalara klinisyenin seçtiği kemoterapi rejimi ve bevasizumab verilmesi medyan progresyonsuz sağkalımı ve genel sağkalımda belirgin üstünlük göstermiştir (114).

-Bevasizumab-Okzaliptatin/5FU/LV: Bevasizumab/okzaliptatin ve 5-FU temelli rejimin ilk hat tedavide etkinliği TREE-2 çalışmasında araştırılmıştır. Bu çalışmada TREE-1 çalışmasındaki 3 farklı 5-FU içeren rejime bevasizumab (mFOLFOX-6 ve bFOL kollarına 5mg/kg 14günde bir, XELOX koluna 7,5mg/kg 21 günde bir) eklenmiştir. Bu nedenle TREE-2 çalışması FOLFOX-bevasizumab kombinasyonunu değerlendiren ilk büyük randomize çalışma olmuştur. TREE-1 çalışmasında XELOX kolunda %38 hastada ilk 12 hafta sonunda tedavinin kesilmiş olması sebebiyle TREE-2 de kapesitabin dozu günde iki kez 850mg/m² olarak belirlenmiştir. Daha önce tedavi görmemiş 213 metastatik KRK'li hasta üç kola randomize edilmiştir. GİS toksisitesi en fazla bFOL kolunda iken, nötropeni en yüksek olarak mFOLFOX-6 kolunda görülmüştür. Yanıt oranlarına bakıldığında bevasizumabın her üç rejim için de anlamlı olarak yanıt oranları düzelttiği saptanmıştır. Bevasizumab içeren tüm kollar için medyan sağkalım 23.7 ay şeklinde rapor edilmiştir. Bu sonuç metastatik KRK'de elde edilen en yüksek medyan sağkalımlardan biri olurken, bevasizumab almayan kollar için medyan sağkalım 18,2 ay olarak saptanmıştır. İkinci hat tedavide bevasizumab-okzaliptatin kombinasyonunun etkinliği ECOG-3200 çalışmasında araştırılmıştır (115). 5-FU veya irinotekan ile tedavi görmüş 829 metastatik KRK'li hasta FOLFOX-4, tek başına bevasizumab ve FOLFOX-4/bevasizumab olmak üzere 3 kola randomize edilmiştir. Medyan 19 aylık ilk izlem sonuçlarına göre bevasizumab/FOLFOX-4 kombinasyonu ile FOLFOX-4 koluna göre istatistik anlamlı olarak daha iyi progresyonsuz sağkalım süresi ve medyan sağkalım süresi elde edilmiştir. 1953 hastanın katıldığı ilk sıra bevasizumab içeren kemoterapi almış hastalarda ilk progresyon sonrası bevasizumab kullanımının kemoterapötik ilacın değiştirilmesi ile belirgin uzun sağkalım sağlamıştır. 1550 hastanın dahil edildiği ARIES çalışmasında ikinci sırada irinotekan ya da oksaliptatin bazlı rejimlerle birlikte bevasizumab

kullanımının devam edilmiş ve elde edilen sonuçlarda sadece irinotekan bazlı rejimle birlikte bevasizumabın kullanımının anlamlı progresyonsuz sağkalım farkı yarattığı saptanmıştır. Bevasizumab tedavisinin progresyon sonrasında devamı konusunu destekleyen veriler olmasına rağmen şu anda elimizde bulunan veriler yeterli değildir ve halen yürümekte olan SWOG S0600/İBET ve bir Avrupa çalışmasının sonuçları yol gösterici olacaktır. Bevasizumab ile yapılmış çalışmaların ışığında yan etki yönetimi açısından da belli yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bevasizumab tedavisi sırasında yeni ortaya çıkan arteriyel trombotik olay durumunda, bevasizumab tedavisi kesilmelidir. Yine barsak perforasyonu, yara iyileşmesinde bozulma ve fistül gelişim riskleri [bir çalışmada %1'in altında bildirilmiş] sebebiyle cerrahi ile bevasizumab kullanımı arasında en az 4–6 haftalık periyot bulunması gerektiği belirtilmektedir (116). Bu hastalara tedaviye bağlı proteinüri ve nefrotik sendrom gelişebileceğinden aralıklı idrar analizi yapılması da önerilmektedir.

-Regorafenib: Anjiogenik (VEGF 1-3'ü içeren), stromal ve onkojenik reseptör tirozin kinazların oral anjiogenez inhibitörüdür. Çoklu sıralı tedavilerle progresyon gösteren 760 hastanın dahil edildiği regorafenible en iyi destek tedavinin refrakter metastatik KRK'de karşılaştırıldığı CORRECT çalışması en son ASCO GI'da sunulmuş ve hastalarda genel sağkalımda (6.4 aya karşın 5 ay) etkinliği gösterilmiştir (117).

-Aflibersept (VEGF Trap): İnsan VEGF reseptör 1 ve 2 ile insan immunoglobulin G'nin Fc parçası ile bağlanmış anahtar bölgeden oluşan bir füzyon proteindir. İntevasküler ve ekstrasvasküler VEGF'e bağlanır ve VEGF reseptör bağlanmasını önler. Hücre bağımsız sistemde, bu molekül bevasizumaba göre VEGF-A'ya daha yüksek affiniteyle bağlanır. 1226 hastanın dahil edildiği önceden tedavi edilmiş metastatik KRK hastalarının dahil edildiği ve FOLFİRİ ile birlikte plasebo ya da afliberseptin kullanıldığı VELOUR çalışmasında medyan sağkalım aflibersept kolunda belirgin daha uzun olarak saptandı (13,5 aya 12.1 ay) (118). Yararı önceki bevasizumab tedavisi kullanımından bağımsız olarak saptandı. Tedavi iyi tolere edildi ve grad 3, 4 olay sıklığı diğer VEGF hedefleyen tedavilerle benzerdi.

-Setuksimab: Hem tümör dokusu hem de normal hücrelerde EGFR'a başlanarak etki yapan kimerik monoklonal bir antikordur. EGF ve EGFR

KRK'de hücre büyümesinin otokrin ve parakrin kontrolünde, angiogenez ya da metastaz oluşumunda rol almaktadır. İmmunohistokimyasal olarak kolorektal kanserlerin %75-82'si EGFR pozitifdir. EGFR'ı hedefleyen ve KRK'de kullanılmakta olan iki monoklonal antikor bulunmaktadır. Bunlardan biri setuksimab ve ikincisi panitumumab'tır. Setuksimab ve panitumumab her ikisi de sadece KRAS vahşi tip KRK'de etkindir. ASCO bu ilaçların kullanımının sadece KRAS vahşi tip olan hastalarda önermektedir (119). Bununla birlikte EGFR varlığı ya da yoğunluğu ile setuksimaba klinik yanıt arasında bir korelasyon bulunmamaktadır. Tek ajan setuksimab ile en iyi destek tedavinin karşılaştırıldığı diğer kemoterapi rejimlerine refrakter metastatik KRK'li 572 hastayı içeren bir çalışmada, tek ajan setuksimab kullanımı 6.1 aya 4.6 ay sağkalım avantajı sağlamıştır (120). Setuksimabın irinotekan rezistansını geri döndürebilme olasılığını destekleyen ilk çalışmada, irinotekana refrakter EGFR pozitif metastatik KRK'li 138 hastaya setuksimab-irinotekan kombinasyonu uygulanmıştır. Parsiyel yanıt %15 ve progresyona kadar geçen süre 6,5ay olarak tespit edilmiştir. Cunningham ve arkadaşlarının yaptığı irinotekan-setuksimab kombinasyonu ile tek ajan setuksimabın karşılaştırıldığı 329 hastalık randomize bir çalışmada kombine tedavi ile anlamlı derecede daha iyi objektif yanıt oranları ve daha uzun progresyona kadar geçen süre elde edilirken, medyan tüm sağkalım farkı istatistik anlamlılığa ulaşmamıştır. Setuksimabın, bu çalışma ile irinotekan refrakter metastatik KRK tedavisinde irinotekan ile kombine kullanımı onaylanmıştır (121). İrinotekan tek ajan veya setuksimab ile birlikte irinotekan kullanımının karşılaştırıldığı 1298 oksaliplatin-refrakter hastanın katıldığı EPIC çalışmasında ve 329 hastanın katıldığı BOND çalışmasında kombine tedavi kolunda anlamlı yanıt oranı farkı ve sağkalım avantajı saptanmıştır (122). 1198 hastanın dahil edildiği CRYSTAL çalışmasında ilk hat metastatik KRK 'li hastalarda FOLFİRİ ile FOLFİRİ-Setuksimab tedavisi karşılaştırılmıştır. Yine bir diğer önemli Faz-2 nitelikteki çalışma Bokemayer ve arkadaşları tarafından yapılan OPUS çalışması olup bu çalışmada da FOLFOX 4 ile FOLFOX 4-Setuksimab kolları karşılaştırılmıştır. Opus ve Crystal çalışmalarının verilerine bakıldığında, setuksimabın kemoterapiye eklenmesi her iki çalışmada da progresyonsuz sağkalım süresini uzatırken, KRAS mutasyonu olmayan alt grupta CRYSTAL çalışmasında istatistik anlamlı, OPUS çalışmasında istatistik anlamlı olmayan

sağkalım avantajı gösterilmiştir (123). İlk sıra tedavide setuksimabın FOLFİRİ ya da FOLFOX ile kombine tedavisinin verildiği CALGB çalışması, bevasizumabın avantajlı durumunu gösteren veriler ortaya çıkması üzerine erken kapatılmıştır. İlk sıra tedavide tek başına FOLFOX/CAPOX rejimiyle, FOLFOX/CAPOX rejimiyle setuksimabın birlikte kullanımının karşılaştırıldığı MRC COIN çalışmasında ve ilk sıra tedavide tek başına FLOX rejimiyle, FLOX rejimiyle setuksimabın birlikte kullanımının karşılaştırıldığı NORDIC VII çalışmasında ilk sıra setuksimabın kullanıldığı rejimlerle belirgin bir PFS farkı ya da yanıt oranı saptanmıştır (124). Setuksimab ile oksaliptatin bazı rejimlerin kullanımının avantajı belirsizdir. Setuksimab ile okzaliptatin bazı rejimlerin kullanıldığı EXPLORE çalışmasının sonuçları yakın zamanda açıklanacaktır.

Setuksimabın en sık yan etkileri halsizlik, akneiform döküntü, nausea, ve infüzyon reaksiyonlarıdır. İnfüzyon reaksiyonları %3 hastada görülebilir ve hastalara antihistaminik ya da kortikosteroid ile profilaksisi gerekebilir. EGFR'yi hedefleyen diğer ajanlarda da olduğu gibi cilt reaksiyonları sık görülebilir ve ciddi olabilir. Cilt reaksiyonlarının şiddeti ile daha iyi yanıt oranlarının korelasyon gösterdiği EVEREST çalışmasında saptanmıştır (125). Setuksimab ayrıca magnezyum kaybettiren sendrom ve hipokalemi yapabildiği çalışmalarda bildirilmiştir (126). Özet olarak günümüzde son veriler eşliğinde setuksimabın KRAS vahşi tip tümörlerde irinotekanla kombine rejimlerle ve diğer kemoterapi rejimleri kullanamayan hastalarda tek ajan olarak kullanımının uygun olduğu düşünülmektedir.

-Panitumumab: Panitumumab spesifik olarak EGFR'yi hedefleyen insan monoklonal antikorudur. 5-FU, irinotekan, oksaliptatin tedavilerine dirençli 436 hastanın dahil edildiği çok merkezli bir çalışmada hastalar en iyi destek tedavi ve panitumumab kollarına randomize edilmiştir ve objektif yanıt oranı (%0, %10) ve stabil hastalık (%10, %27) oranının panitumumab kolunda daha iyi olduğu saptanmıştır (127). Daha sonra yapılan reanalizde faydanın sadece KRAS vahşi tip alt grupta olduğu saptanmıştır (12). Cilt toksisitesi, diyare, karın ağrısı, yorgunluk, ve bulantı sıklıkla görülen yan etkileridir. Panitumumab tek ajan olarak metastatik KRK'de diğer rejimlerle progresyon geliştirse son seçenek olarak kullanılabilir. Etkinlik setuksimab ile benzerdir.

Fakat setuksimaba dirençli hastalarda yararı belirsizdir (120). Panitumumabın ilk sıra ya da ikinci sırada oksaliplatin, irinotekanli rejimlerle kullanımının yararını gösteren çalışmalar giderek artmaktadır (128,129).

-Erlotinib ve gefitinib: Tek başlarına kullanımlarında etkinlikleri gösterilememiştir (130). Fakat erlotinible birlikte oksaliplatin ve kapesitabinli rejimlerin kullanımı ve gefitinible FOLFOX rejiminin kullanıldığı önceden tedavi almış hastalarda olumlu sonuçlar alındığı faz II çalışmalarda gösterilmiştir (131,132).



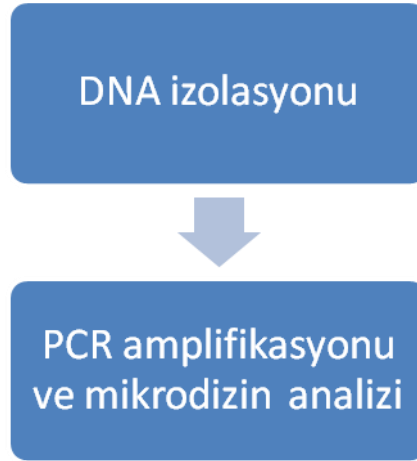
C. GEREK ve YÖNTEM

Bu çalışmada 2000-2011 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Onkoloji bölümüne başvurmuş olan, KRAS mutasyon durumu belirlenmiş 115 metastatik KKR hastası değerlendirmeye alındı. Hastaların dosya kayıtları retrospektif olarak incelendi ve demografik özellikler, klinik ve patolojik özellikler, uygulanan tedavi şekilleri ve sonuçları ile sağkalıma ilişkin verileri kaydedildi. Hastaların performans durumu ECOG değerlendirme kriterlerine göre değerlendirildi. Primer tümör yerleşim yerleri proksimal kolon, distal kolon ve rektum olarak gruplandırıldı. Metastazların yerleşim yerleri ve dağılım özellikleri sırasıyla şu şekilde gruplandırıldı: izole karaciğer, izole akciğer, karaciğer+akciğer, izole periton ile batin içi ve batin dışı metastaz; sayısal olarak da tek, iki ve ikiden fazla metastaz şeklinde gruplandırıldı. Tedavi yanıtları WHO yanıt değerlendirme kriterlerine göre, toksisite değerlendirmeleri de WHO toksisite değerlendirme kriterlerine göre yapıldı. Tanı tarihi, patolojik tanı zamanı ya da preoperatif tanısı olmayan hastalarda operasyon zamanı olarak alındı. Yaşayan hastaların son durumları yakın zamanlı son kontrol bulgularına göre belirlendi. Genel sağkalım süresi (OS), tanı tarihinden ölüm tarihi ya da poliklinik son görülme tarihine kadar geçen süre olarak alındı. Hastalıksız sağkalım süresi (DFS), tanı tarihinden ilk nüksün saptandığı tarihe kadar geçen süre olarak alındı. Progresyonsuz sağkalım süresi (PFS) uygulanan tedavinin başlangıcından tümörde progresyon gelişmesine kadar geçen süre olarak hesaplandı. Hastalarda KRAS mutasyon durumuna göre klinikopatolojik özellikler, ve sağkalım analizleri istatistiksel olarak değerlendirildi.

Çalışma öncesinde Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı (606-GOA protokol numaralı, 201217-06 numaralı etik kurul izin belgesi mevcuttur.) alındı.

1. ARŞİV PARAFİN BLOKLARDAN DNA DİZİLME YÖNTEMİ İLE KRAS ÇALIŞILMASI

Olguların formaline fiske edilmiş parafine gömülmüş tümör dokusu örneklerinden ilk olarak Deoksiribonükleik asit (DNA) izolasyonu yapılır. Arkasından elde edilen DNA mutasyon analizi yapılacak olan hedef bölgelere özgü primerlerle çoğaltılır. Buradaki amaç elde edilen DNA'nın miktarının artırılması ve yapılacak genetik analizin görünür hale getirilmesidir. Ardından pcr ile çoğaltılan örnekler biyofilm çip tabanlı microdizin cihazında analizlenir.



Şekil 7. İş akış şeması

I. Formalinde Fikse Edilmiş Parafine Gömülü Tümör Dokusundan DNA İzolasyon

Çalışmada kolon tümör dokusu örneklerinden KRAS mutasyon analizi yapıldı. Kullanılacak örnekler patoloji laboratuvarı arşiv materyallerinden alındı. Patoloji laboratuvarında mikrotomun alkolle silinmesinden sonra 10 mikron kalınlığında alınan kesitler, steril ependorf tüplerine konuldu. Tüplerdeki dokulara spin kolum yöntemi ve parafin dokudan DNA ekstraksiyon kiti kullanarak spin kolon tabanlı DNA ekstraksiyonu yapıldı.

Kolon tabanlı nükleik asit ekstraksiyonu, nükleik asitlerin kolayca ayrılmasını sağlayan katı faz ekstraksiyon metodudur. Bu metot nükleik asitin katı faza (silika veya başka bir madde) tampondaki tuz miktarı veya pH bağımlı olarak ayrılmasını sağlar. Bu yöntem üç temel basamak içerir:

1. Örneğin kolona aktarılmasıyla nükleik asitlerin katı faza geçmesi
2. Kolonun yıkanması
3. Nükleik asitlerin kolondan tampon veya su ile elüe edilmesi **(133)** .

Ardından spektrofotometre ile elde edilen DNA'nın miktarı ölçüldü ve yeterlilik açısından değerlendirildi. Çünkü moleküler analiz yöntemlerinde kullanılan izole edilen DNA ekstraktındaki DNA konsantrasyonunun miktarı ve diğer maddelerin varlığı bilinmelidir. Çeşitli DNA ölçüm yöntemleri vardır. Spektrofotometre, slot blot, kantitatif PZR bunlardan bazılarıdır. Spektrofotometre bunlardan en yaygını ve ucuz olanıdır. Spektrofotometre ile DNA 260 nm (A260) ve 280 nm (A280) dalga boylarında ölçülür. Bu yöntemin temeli DNA'nın 260 nm UV dalga boyunda en fazla absorbans göstermesinden ileri gelir. A280'deki

ölçüm ise örneğin içindeki proteinleri, fenolleri belirler. Saf DNA örneklerinin A260 / A280 oranı 1,8 ile 2,0 arasında olmalıdır **(134)**.

a. Kullanılan Malzeme ve Kit

1. QIAmp DNA FFPE Tissue Kit :(QIAGEN cat no: 56404)
2. Santrifüj : (ependorf ,seri no:5452Y0451206)
3. Otomatik Pipet seti : (eppendorf)
4. Pipet ucu (grenier-bio one)
5. Alkol (sigma lot no:SZBA1300)
6. Ksilol (Merck lot no:K40269181933)
7. Vorteks (Bioblock Scientific Heidolph Top Mix94323)

b. DNA İzolasyonu Prosedürü

1. Ependorftaki kesitlerin üzerine 1 ml Ksilol konuldu.
2. 10 sny vortekslendi.
3. Vortekslediğini 2 dk maximum hızda çevirildi.
4. Üstteki sıvıyı çekildi ve pellet bırakıldı.
5. Pelletin üzerine 1 ml etanol konuldu.
6. 10sn vorteks vortekslendi.
7. 2dk maximum hızda (full-speed) yapıldı.
8. Üstteki süpernatanı(alkolü) atıldı.
9. Kalanı 37°C de kuru ısı blogunda uçuruldu
10. Proteinase-k ve Buffer ATL yi bir ependorf ta hazırlandı.Hazırlarken yarım ölçü fazla konuldu ve önce buffer ı ve sonra proteinase-k yı konularak ve pipetajlandı.
11. Her hasta için **Buffer ATL**:180 µL

i. Proteinase-k:20 µL

12. Kuru ısı blogunda alkolün iyice uçtuğu görüldükten sonra hazırlanan **buffer-proteinasek** solüsyonundan 200 µL konuldu.İyice pipetajlandı veya orta devirde vortekslendi.
13. 56 °C kuru ısı blogunda 1 saat inkübe edildi (parçalanma olmadıysa ek süre eklenebilir).
14. 90 °C de kuru ısı blogunda 1 saat inkübe edildi.
15. Mini bir spin yapıldı (Santrifüj de 6000 g veya 8000 rpm de 10 sn).
16. Örneklerin üzerine 200 µL **AL buffer**'dan konuldu ve vortekslendi.
17. 200 µL etanol konuldu ve vortekslendi.
18. 6000g'de mini bir spin yapıldı.

19. Ependorfun içindeki örnekler filtreli koleksiyon tüplerine alındı.
20. 8000rpm=6000g'de 1 dk santrifüj yapıldı.
21. Santrifüj sonrası alttaki koleksiyon tüpleri atıldı ve filtreler yeni koleksiyon tüplerine geçirildi.
22. Filtrelerin üzerine 500 µL **wash buffer1 (AW1)** konuldu.
23. 8000rpm'de 1 dk çevirildi.
24. Santrifüj sonrası alttaki koleksiyon tüpleri atıldı ve filtreler yeni koleksiyon tüplerine geçirildi.
25. Filtrelerin üzerine 500 µL **wash buffer 2 (AW2)** konuldu.
26. 8000rpm'de 1 dk çevirildi.
27. Santrifüj sonrası alttaki koleksiyon tüpleri atılır ve filtreler yeni koleksiyon tüplerine geçirildi.
28. 14000rpm'de 3 dk çevirilir ve filtreler kurutuldu.
29. Alttaki koleksiyon tüpleri atılıp, filtreler steril 1.5'luk ependorflara aktarıldı.
30. Filtrelerin tam ortasına gelecek şekilde 50 µL **Buffer ATE (elution buffer)** konuldu.
31. Oda ısısında 1 dk inkübe edildi (DNA verimini artırmak için inkübasyon süresi 5 dk'ya çıkarılır).
32. 14000rpm'de 1dk çevirilir ve filtreler atıldı. Ependorfta elde edilen sıvı DNA'dır.
33. Elde edilen DNA hemen çalışılabilir veya -20 C'de saklanabilir.

2. PCR Amplifikasyonu ve Mikrodizin Analizi

KRAS analizi, KRAS allel varyantlarının (nükleotid değişiklikleri) mikroarray temelli moleküler metotla saptanması amacıyla tasarlanmıştır. Deneyde KRAS geni ekzon 2 bölgesindeki kodon 12, 13 ve 61 bölgelerine yönelik primerle olgunun DNA'sı çoğaltılır.

Polimeraz zincir reaksiyonu herhangi bir organizmaya ait DNA molekülünde ilgilenilen gen bölgelerinin in vitro çoğaltılmasını sağlayan enzimatik DNA sentez yöntemidir. PZR reaksiyonunun gerçekleştirilmesi için kalıp DNA molekülü, DNA'da ilgilenilen bölgeyi çoğaltmaya uygun olarak tasarlanmış primerler, deoksinükleotidler (dNTP), DNA polimeraz enzimi ve magnezyum (Mg^{2+}) gereklidir. PZR süreci arka arkaya tekrarlanan pcr döngülerinden oluşur. Her bir PZR döngüsü denatürasyon, tavlama (bağlanma) ve uzama adı verilen 3 basamağa oluşur. Denatürasyon, çift iplikli kalıp DNA zincirini bir arada tutan hidrojen bağlarının yüksek sıcaklıkta denatürasyonu ve primer bağlanmasına olanak veren tek iplikli kalıp DNA zincirlerinin oluşumudur. Bağlanma, hedef bölgelere özgü primerlerin uygun bağlanma sıcaklığında DNA'ya bağlanmasıdır. Uzama basamağı ise Taq polimeraz enziminin en yüksek aktivite gösterdiği sıcaklık olan 72 °C'de

primerlerin 5'→3' yönde uzamasıyla tek iplikli DNA'ya komplementer DNA'nın oluşması işlemidir **(134)**.

Daha sonra pcr ortamına eklenen nükleotidlerin yok edilmesi amacıyla enzimatik parçalama ile pcr ürünleri temizlenir. Ardından örnekler mikrodizin cihazına verilir ve örneklerin analizi yapılır. Deney dizaynında her bir ekzon için internal kontrol bulunmaktadır ve bir veya daha fazla mutasyon saptanabilir. Biyoçip tabanlı mikrodizin analizi deneyi beş temel basamak içerir:

1. DNA'nın multipleks pcr amplifikasyonu.
2. Analit spesifik primer uzaması kullanılarak floresan işaretlerin inkorporasyonu
3. Analit spesifik primer uzamasındaki hibridizasyon aşamasından sonra yıkama
4. Mikrodizinde tarama
5. Sinyal dedeksiyonu ve analizi **(135)**.

Aşağıdaki tabloda saptanabilecek mutasyonların listesi bulunmaktadır.(Tablo 3)

Tablo 3. KRAS geni'nde saptanan mutasyonlar

Gene	Codon	Analyte	Reported mutations detected		
KRAS	12	G12A	Gly12Ala	c.35G>C	GGT>GCT
		G12C	Gly12Cys	c.34G>T	GGT>TGT
		G12D	Gly12Asp	c.35G>A	GGT>GAT
		G12F	Gly12Phe	c.34_35GG>TT	GGT>TTT
		G12R	Gly12Arg	c.34G>C	GGT>CGT
		G12S	Gly12Ser	c.34G>A	GGT>AGT
		G12V	Gly12Val	c.35G>T	GGT>GTT
	13	G13A	Gly13Ala	c.38G>C	GGC>GCC
		G13C	Gly13Cys	c.37G>T	GGC>TGC
		G13D	Gly13Asp	c.38G>A	GGC>GAC
		G13R	Gly13Arg	c.37G>C	GGC>CGC
		G13S	Gly13Ser	c.37G>A	GGC>AGC
		G13V	Gly13Val	c.38G>T	GGC>GTC
	61	Q61E	Gln61Glu	c.181C>G	CAA>GAA
		Q61H1	Gln61His	c.183A>C	CAA>CAC
		Q61H2	Gln61His	c.183A>T	CAA>CAT
		Q61K	Gln61Lys	c.181C>A	CAA>AAA
		Q61L	Gln61Leu	c.182A>T	CAA>CTA
		Q61P	Gln61Pro	c.182A>C	CAA>CCA
		Q61R	Gln61Arg	c.182A>G	CAA>CGA

a. Kullanılan malzeme ve kit:

(a) KRAS BioFilmChip Magazine

(b) KRAS Intellipac Reagent Module: İçindekiler:

1.Reaction master mix:

- ☐ dNTPs
- ☐ Labeled-dCTP
- ☐ Allele Specific Primers
- ☐ Extension Reaction Buffer

2. Hybridization Buffer

(c) KRAS Amplification Mix

1.dNTPs

2.Multiplex primer mix

3.MgCl

4.Reaction buffer

(d) Wash Buffer

(e) Titanium Taq DNA Polymerase

- (f) Exonuclease I
- (g) Shrimp alkaline phosphatase
- (h) Distilled water
- (i) INFINITI PipetteTips
- (i) INFINITI Waste Tray Liners
- (j) INFINITI Waste Tray Stir Bars
- (k) INFINITI Temp Cyclor Plate
- (l) 24 Well Plates / Lids
- (m) Pipettors
- (n) Mini Centrifuge
- (o) MicrofugeTube Racks
- (ö) Thermocycler
- (p) Vortex
- (r) 1.5 ml Microcentrifuge Tubes
- (s) Eight well PCR strip caps

b. PCR ve SAP-EXO Tabanlı Pürifikasyon Prosedürü

1. Amplifikasyon miskleri ve örnekler oda sıcaklığında eritilir ve vortekslendi.
2. PCR master miski hazırlandı(örnek sayısına göre hesaplama yapıldı)(Tablo 4).

Tablo 4. PCR Master miks hazırlığı

PCR Master Miks Hazırlanması	
PCR reaction master mix	17,8 µl
Titanium Taq DNA polymerase	0,2 µl
Total PCR master mix hacmi	18 µl

3. 24 kuyucuklu plate, hazırlanan pcr master miksinden 18'er µl olacak şekilde dağıtıldı.
4. Her bir kuyucuğa analizi yapılacak örnek DNA'sından 2'er µl konuldu.

Tablo 5. Amplifikasyon reaksiyonu hazırlığı

Amplifikasyon Reaksiyonu Hazırlanması	
Total PCR master mix	18 µl
Örnek DNA'sı	2 µl
Total amplifikasyon reaksiyon hacmi	20 µl

5. Kuyucuklu plate'in kapakları kapatıldı ve thermal cycler'da pcr işlemi başlatıldı.

Tablo 6. PCR şartları

Step No.	Temperature °C	Time (sec)	No. of Cycles
1	94	120	1
2	94 67 – 57 (-1.0/cycle)	15 15	10
3	94 57	15 15	30
4	94 4	15 Hold	1

6. PCR ürününün pürifikasyonu için SAP ve ekzonükleaz ile muamele yapılması için SAP-Exo reaksiyonu hazırlandı (örnek sayısına göre hesaplama yapılarak karışım hazırlandı).

Tablo 7. Sap-Exo reaksiyonu hazırlığı

SAP-Exo Reaksiyonu Hazırlanması	
SAP	1.500µl
Exnonuclease I	0.375 µl
Titanium Taq	0.125 µl
Total SAP-Exo Reaksiyon Hacmi	2.000 µl

7. Hazırlanan karışım 5 sn kadar kuvvetlice vortekslendi.

8. 24 kuyucuklu plate'de olan PCR ürünlerinin üzerine 2'er µl SAP-Exo reaksiyonundan eklendi ve thermal cycler'da inkübe edildi.

Tablo 8. Sap-Exo inkübasyon koşulları

Step No.	Temperature °C	Time (min)
1	37	60
2	94	20
3	4	Hold

c. Mikrodizin Cihazına Örneklerin Yüklenmesi

- Mikrodizin cihazı örnekler yüklenmeden önce açıldı. Analiz için gerekli olan pipet uçları, wash buffer, deney spesifik magazinle ve intellipacletler cihaza yüklendi ve cihaza tanıtıldı.
- SAP-Exo muamelesinden sonra 24wp 'deki pcr örnekleri mikrodizin cihazına yüklendi.



Şekil 8. Analizlerin yapıldığı mikrodizin cihazı

3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Gruplar arası homojenite karşılaştırmaları Fisher'ın kesin ki-kare testi ile, genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım eğrilerinin elde edilmesi Kaplan-Meier yöntemi ile yapıldı. Sağkalım eğrilerinin karşılaştırmaları Log-rank testi ile yapıldı. Multivariyet analiz ile yapıldı Güvenirlilik aralığı %95, istatistiksel anlamlılık için p değeri<0,05 olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS 15 programı kullanılarak yapıldı.

D. SONUÇLAR

1. HASTALARIN ÖZELLİKLERİ

Metastatik KKK tanısı olan ve takiplerinde KRAS mutasyon durumu bilinmekte olan toplam 115 hasta değerlendirmeye alındı. Hastaların 68'i erkek (%59,1), 47'si (40,9) kadın olup median yaş 57.6 idi. Hastaların 58 (%50,5)'i tanı anında metastatik iken kalan 57(%49,5)'si daha önceden erken evre kolorektal kanser tanısı almış olup takip eden süreçte metastatik hale gelen hastalardı. Bunlardan 1 tanesi evre I, 11 tanesi evre II ve 45 tanesi de evre III hastalığa sahipti. Hastaların 110 (%95,7)'unda tanı anında performans durumu ECOG 0 iken 5 (%4,3)'inde ise ECOG 1 idi. Hastaların 105 (%91,3)'inde ailede kanser öyküsü yok iken, kalan 10 (%8,7)'unda bulunmaktaydı. Bunlardan 4'ünde 1. derece akrabada kolon kanseri, 4'ünde meme kanseri, birinde prostat kanseri, birinde akciğer kanseri öyküsü ve birinde de tiroid kanseri kanseri öyküsü bulunmaktaydı. Hastaların 38 (%33,0)'ünde eşlik eden komorbid hastalık bulunmaktayken, 77 (%77,0)'sinde herhangi bir komorbid hastalık eşlik etmemekteydi. Komorbid hastalıkların dağılımına bakıldığında, 10'unda koroner arter hastalığı, 25'inde hipertansiyon, 9'unda tip 2 diyabetes mellitus, 2'sinde kronik obstruktif akciğer hastalığı, 2'sinde de kalp kapak hastalığı bulunmaktaydı. Hastaların 59 (%51,3)'unda sigara kullanım öyküsü varken, 47 (%40,9)'sinde sigara kullanım öyküsü bulunmamaktaydı. Hastaların vücut kitle indeksi (VKİ) değerlendirildiğinde tüm hasta grubunun tanı anındaki VKİ ortalaması 26,4 olarak saptandı Hastaların demografik özelliklerine göre dağılımları Tablo 9'da gösterilmiştir.

Hastaların tümör yerleşim bölgeleri değerlendirildiğinde 44'ü rektum yerleşimli iken kalan 71'i kolonda yer almaktaydı. Kolon yerleşimli 71 hastanın 34'ü sol kolonda, 25'i sağ kolonda, 1'i transvers kolonda, 11'ide rektosigmoidde yer almaktaydı (Tablo 9). Hastaların patolojik tanıları incelendiğinde ise 103 (%89,6) hastada adenokarsinom, kalan 12 (%10,4) hastada ise müsinöz adenokarsinom saptandı. Hastaların patolojik özelliklerine göre dağılımı tablo 10'da ve TNM evrelemesi tablo 11'de gösterilmiştir (Tablo 10,11).

Tüm hasta grubunun metastaz yerleşim bölgeleri ve sayılarına bakıldığında 33 hastada izole karaciğer metastazı, 13 hastada izole akciğer metastazı, 22 hastada karaciğer+akciğer metastazı, 11 hastada izole periton metastazı bulunurken, hastada multipl organda metastazlar mevcuttu. Hastalar metastazların sayısı bakımından değerlendirildiğinde 70 hastada tek organda soliter metastaz, 40 hastada iki organda metastaz saptanırken, 5 kadarında da ikiden fazla organda metastaz mevcuttu. Metastazların yerleşim ve dağılım özellikleri tablo 12'de gösterilmiştir.

Tanıda metastaz saptanmamış 57 hastanın almış oldukları adjuvan tedaviler değerlendirildiğinde 47'sinin (%82,5) adjuvan tedavi aldığı, 10'unun (%17,5) almadığı saptandı. Adjuvan tedavilerin kemoterapi tiplerine göre dağılımı tablo 13'de gösterilmiştir. Kemoradyoterapi (KRT) ise 30 (%26,1) hastaya uygulanmış olup bu hastaların tümü rektum kanserli hastalardı. Bunlardan 22 (%76,7)'sine lokal ileri rektum kanseri tanısıyla neoadjuvan amaçlı uygulanırken, kalan 8'ine (%23,3) ise metastatik hastalık tanısıyla palyatif amaçlı olarak uygulanmıştı. Kemoradyoterapi uygulanan hastalarının tümör yerleşim yerlerine bakıldığında 3 (%10) hastada tümörün rektosigmoid yerleşim gösterdiği, kalan 27 (%90) hastada ise rektum yerleşimli olduğu saptandı (Tablo 13)

Toplam 115 hastanın metastatik hastalıkta aldıkları sistemik tedaviler değerlendirildiğinde en sık uygulanan rejimin oksaliptatin içeren rejimler (137 hasta; 70 kadarı ilk sıra, 20 kadarı ikinci sıra ve 47 kadarı da ≥ 3 . Sıra) olduğu, bunu irinotekan içeren rejimler (20 hasta; 3 kadarı ilk sıra, 9 kadarı ikinci sıra ve 8 kadarı da ≥ 3 . Sıra), bevasizumab içeren rejimlerin (142 hasta; 36 kadarı ilk sıra, 68 kadarı ikinci sıra ve 38 kadarı da ≥ 3 . Sıra), diğer rejimlerin (52 hasta) takip ettiği saptandı. Kırk üç hastada ise Setuksimab içeren tedavi uygulanmış olup, bunlardan 11'i ikinci sırada, 12'si üçüncü sıra, 20'si de dördüncü ve daha ileri sıra tedavi olarak uygulanmıştı (Tablo 14).

Tablo 9. Hastalara ait demografik ve klinik bulgular

ÖZELLİKLER	Hasta sayısı (n)	%
Hasta Sayısı	115	(100,0)
Cinsiyet		
Erkek	68	(59,1)
Kadın	47	(40,9)
Performans Durumu (WHO)		
ECOG 0	110	(95,7)
ECOG 1	5	(4,3)
Sigara öyküsü		
Var	59	(51,3)
Yok	47	(40,9)
Komorbid hastalık		
Var	38	(33)
Yok	77	(67)
Primer Tümör Bölgesi		
Proksimal	25	(21,7)
Distal	46	(40,0)
Rektum	44	(38,3)
Tümör perforasyonu		
Var	6	(5,2)
Yok	109	(94,8)

Tablo 10. Hastalara ait patolojik bulgular

ÖZELLİKLER	Hasta sayısı	%
Tümörün histolojisi		
Adenokarsinom	103	(89,6)
Müsinöz adenokarsinom	12	(10,4)
Tümörün Diferansiyasyon Derecesi		
İyi	33	(28,7)
Orta	67	(58,3)
Kötü	9	(7,8)
Bilinmeyen	6	(5,2)
İntratümöral yanıt		
Yok	29	(25,2)
Hafif	14	(12,2)
Hafif-orta	26	(22,2)
Belirgin	1	(0,9)
Bilinmeyen	45	(39,1)
Peritümöral Yanıt		
Yok	26	(22,6)
Hafif	23	(20,0)
Hafif-orta	21	(18,3)
Belirgin	0	(0)
Bilinmeyen	45	(39,1)
Müsinöz komponent		
Var	14	(12,2)
Yok	83	(72,2)
Bilinmeyen	18	(15,7)
Perinöral invazyon		
Var	48	(41,7)
Yok	35	(30,4)

Bilinmeyen	32	(27,8)
------------	----	--------

Lenfatik invazyon

Var	48	(41,7)
-----	----	--------

Yok	35	(30,4)
-----	----	--------

Bilinmeyen	32	(27,8)
------------	----	--------

Damar invazyonu

Var	34	(29,6)
-----	----	--------

Yok	50	(43,5)
-----	----	--------

Bilinmeyen	31	(27,0)
------------	----	--------

Tablo 11. Hastalara ait tanı anındaki evreleme (TNM) ile ilgili bulgular

ÖZELLİKLER	Hasta sayısı	%
Evre I	1	(0,9)
Evre II	11	(9,6)
Evre III	45	(39,1)
Evre IV	58	(50,4)
Primer Tümör (T)		
Tx	2	(1,7)
T1	0	(0,0)
T2	4	(3,5)
T3	58	(50,4)
T4	43	(37,4)
Bölgesel Lenf Nodu Tutulumu (N)		
N0	19	(16,5)
N1	45	(55,1)
N2	40	(34,8)
Bilinmeyen	11	(9,6)
Uzak Metastaz (M)		
M0	57	(49,6)
M1a	37	(32,2)
M1b	21	(18,2)

Tablo 12. Metastazların yerleşim ve dağılım özellikleri

ÖZELLİKLER	Hasta sayısı	%
Karaciğer Metastazı		
Var	67	(58,3)
Yok	48	(41,7)
Akciğer Metastazı		
Var	48	(41,7)
Yok	67	(58,3)
Periton Metastazı		
Var	22	(19,1)
Yok	93	(80,9)
Uzak Lenf Nodu Metastazı		
Var	22	(19,1)
Yok	93	(80,9)
Metastaz Sayıları		
Tek Metastaz	70	(60,9)
İki Metastaz	40	(34,8)
Üç ve üçten fazla Metastaz	5	(4,3)
Metastaz Tutulum Bölgeleri		
İzole Akciğer Metastazı	13	(11,3)
İzole Karaciğer Metastazı	33	(28,7)
Karaciğer + Akciğer Metastazı	22	(19,1)
İzole Periton Metastazı	11	(9,6)
Diğer	36	(31,3)
<i>Batın İçi Metastaz</i>	54	(47,0)
<i>Batın Dışı Metastaz</i>	25	(21,7)
<i>Batın İçi ve Dışı Metastaz</i>	36	(31,3)

Tablo 13. Hastaların aldıkları tedavi tipleri

ÖZELLİKLER	Hasta sayısı	%
Kemoradyoterapi		
Var	30	(26,0)
Yok	85	(74,0)
Adjuvan Kemoterapi		
FOLFOX4	33	(28,7)
m De Gramont	11	(9,6)
Diğer	3	(2,7)
Yok	68	(59,1)

Tablo 14. Metastatik Hastalıkta Kullanılan Kemoterapi Tipleri

REJİM	1. SIRA	2. SIRA	≥3. SIRA
Oksaliplatin içeren	70	20	47
İrinotekan içeren	3	9	8
Bevasizumab içeren	36	68	38
Setuksimab içeren	0	11	32
Diğer	5	10	37

* Farklı sıralarda tekrar kullanılan rejimler analize dahil edildi.

2. KRAS MUTASYON DURUMU SONUÇLARI

Hastaların KRAS mutasyon durumuna bakıldığında 115 hastanın 71'inde KRAS mutasyonu saptanmazken (vahşi tip), kalan 44 hastada KRAS mutasyonu saptandı. KRAS mutasyonu saptanan hastaların ise sadece 5'inde (%11,3) KRAS 13 kodon mutasyonu saptandı. Tüm hasta grubunun içinde BRAF mutasyonu bakılan 17 hasta değerlendirildiğinde 6 hastada BRAF mutant tip, 11 hastada ise BRAF vahşi tip saptandı (tablo 15).

Tablo 15. KRAS Mutasyon Durumu Sonuçları

Özellikler	Hasta sayısı	%
KRAS Vahşi Tip	71	(61,7)
KRAS Mutant Tip	39	(33,9)
KRAS 13 Kodon mutasyonu	5	(4,3)
BRAF Vahşi Tip	11	(9,6)
BRAF Mutant Tip	6	(5,2)
BRAF Bilinmeyen	98	(85,2)

3. HASTALARIN KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİ İLE KRAS MUTASYON DURUMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hastaların demografik, klinik ve patolojik özellikleriyle KRAS mutasyon durumu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir ilişki saptanmadı. Vücut kitle indeksi ile KRAS mutasyon durumu arasında anlamlı bir ilişkili saptanmadı. Vücut Kitle indeksi ortalaması kras vahşi grupta 26,1 iken KRASmutant olan grupta ortalama 27,0 olarak saptandı. Sadece tümör yerleşim yerine göre değerlendirildiğinde proksimal tutulumu olan tümörlerde KRAS vahşi tip istatistiksel olarak anlamlı oranda fazla saptandı (p: 0.028). Hastaların KRAS mutasyon durumu sonuçları ile klinikopatolojik özelliklere göre dağılımı tablo 16, 17, 18 ve 19'da gösterilmiştir.

Tablo 16. Hastalara ait demografik ve klinik bulgularla KRAS mutasyon durumu dağılımı

	<u>KRAS vahşi tip</u>	<u>KRAS mutant tip</u>
Hasta Özellikleri	N (%)	N (%)
Hasta Sayısı	71 (61,7)	44 (38,3)
Cinsiyet*		
Kadın	26 (55,3)	21 (44,7)
Erkek	45 (66,2)	23 (33,8)
ECOG*		
0	69 (62,7)	41 (37,3)
1	2 (40,0)	3 (60,0)
Sigara öyküsü*		
Var	38 (64,4)	21 (35,6)
Yok	28 (59,6)	19 (40,4)
Komorbid hastalık*		
Var	26 (68,4)	12 (31,6)
Yok	45 (58,4)	32 (41,6)
Primer Tümör Bölgesi**		
Proksimal	21 (84,0)	4 (16,0)
Distal	24 (52,2)	19 (47,8)
Rektum	26 (59,1)	18 (40,9)
Tümör perforasyonu		
Var	4 (66,7)	2 (33,3)
Yok	67 (61,5)	42 (38,5)

*istatistiksel olarak değerlendirilebilen parametrelerde $p>0.05$

** istatistiksel olarak değerlendirilebilen parametrelerde $p<0.05$

Tablo 17. Hastalara ait patolojik bulgularla KRAS mutasyon durumu dağılımı

Hasta Özellikleri	KRAS vahşi tip	KRAS mutant tip
	N (%)	N (%)
Tümörün histolojisi*		
Adenokarsinom	61 (59,2)	42 (40,8)
Müsinöz adenokarsinom	10 (83,3)	2 (16,7)
Tümörün Diferansiyasyon Derecesi*		
İyi	21 (63,6)	12 (36,4)
Orta	42 (62,7)	25 (37,3)
Kötü	6 (66,7)	3 (33,3)
İntratümöral yanıt		
Yok	21 (72,4)	8 (27,6)
Hafif	9 (64,3)	5 (35,7)
Hafif-orta	17 (65,4)	9 (34,6)
Belirgin	1 (100)	0 (0)
Peritümöral Yanıt*		
Yok	19 (73,1)	7 (26,9)
Hafif	15 (65,2)	8 (34,8)
Hafif-orta	13 (61,9)	8 (38,1)
Belirgin	0 (0)	0 (0)
Müsinöz komponent*		
Var	12 (85,7)	2 (14,3)
Yok	49 (59,0)	34 (41,0)
Perinöral invazyon*		
Var	29 (60,4)	19 (39,6)
Yok	23 (65,7)	12 (34,3)
Lenfatik invazyon		
Var	28 (58,3)	20 (41,7)

Yok	24 (68,6)	11 (31,4)
Damar invazyonu*		
Var	21 (61,8)	13 (38,2)
Yok	31 (62,0)	19 (38,0)

***istatistiksel olarak değ erlendirilebilen parametrelerde $p>0.05$**



Tablo 18. Hastalara ait tanı anındaki evrelemeye (TNM) göre KRAS mutasyon durumu sonuçları

	<u>KRAS vahşi tip</u>	<u>KRAS mutant tip</u>
Hasta Özellikleri	N (%)	N (%)
Tanı Anındaki Evreleme(TNM) *		
Evre I	0 (0)	1 (100)
Evre II	9 (81,8)	2 (18,2)
Evre III	23 (51,1)	22 (48,9)
Evre IV	39 (67,2)	19 (32,8)
Primer Tümör (T)		
Tx	2 (100,0)	0 (0)
T1	0 (0)	0 (0)
T2	2 (50,0)	2 (50,0)
T3	32 (55,2)	26 (44,8)
T4	33 (76,7)	10 (23,3)
Bölgesel Lenf Nodu Tutulumu (N) *		
N0	14 (73,7)	5 (26,7)
N1	24 (53,3)	21 (46,7)
N2	28 (70,0)	12 (30,0)
Uzak Metastaz (M) *		
M0	32 (56,1)	25 (43,9)
M1a	24 (66,7)	12 (33,3)
M1b	14 (66,7)	7 (33,3)

*istatistiksel olarak değerlendirilebilen parametrelerde $p>0.05$

Tablo 19. Metastazların yerleşim ve dağılım özelliklerine göre KRAS mutasyon durumu sonuçları

	KRAS vahşi tip	KRAS mutant tip
Hasta Özellikleri	N (%)	N (%)
Tamda Metastaz Durumu*		
Var	39 (67,2)	19 (32,8)
Yok	32 (56,1)	25 (43,9)
Karaciğer Metastazı*		
Var	40 (59,7)	27 (40,3)
Yok	31 (64,6)	17 (35,4)
Akciğer Metastazı*		
Var	27 (56,3)	21 (43,8)
Yok	44 (65,7)	23 (34,3)
Periton Metastazı*		
Var	16 (72,7)	6 (27,3)
Yok	55 (59,1)	38 (40,9)
Uzak Lenf Nodu Metastazı*		
Var	11 (55,0)	9 (45,0)
Yok	60 (63,2)	35 (36,8)
Metastaz Sayıları*		
Tek Metastaz	44 (62,9)	26 (37,1)
İki Metastaz	25 (62,5)	15 (37,5)
Üç ve üçten fazla Metastaz	2 (40,0)	3 (60,0)
Metastaz Tutulum Bölgeleri		
İzole Akciğer Metastazı	6 (46,2)	7 (53,8)
İzole Karaciğer Metastazı	20 (58,8)	14 (41,2)
Karaciğer + Akciğer Metastazı	12 (57,1)	9 (42,9)
İzole Periton Metastazı	7 (63,6)	4 (36,4)
Batın İçi Metastaz*	35 (64,8)	19 (35,2)
Batın Dışı Metastaz*	13 (52,0)	12 (48,0)
Batın İçi ve Dışı Metastaz*	23 (63,9)	13 (36,1)

*istatistiksel olarak değerlendirilebilen parametrelerde $p>0.05$

Kemoradyoterapi alan hastalar KRAS mutasyon durumuna göre değerlendirildiğinde 20'si KRAS vahşi tip, 10'u KRAS mutant tip olarak saptandı. Bunlardan neoadjuvan kemoradyoterapi uygulananlarda tedavi yanıtı ile KRAS mutasyon durumu arasındaki ilişki analiz edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (tablo 20).

Tablo 20. Neoadjuvan KRT yanıt sonuçlarının değerlendirilmesi

Hasta Özellikleri	KRAS vahşi tip		KRAS mutant tip	
	N (%)		N(%)	
Tümör regresyon derecesi*				
≤ 2	16	(72,8)	6	(27,2)
≥ 3	4	(50,0)	4	(50,0)

*istatistiksel olarak değerlendirilebilen parametrelerde $p>0.05$

Metastatik hastalıkta ilk sıra tedavide uygulanan kemoterapiye yanıt ile KRAS mutasyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Diğer yandan hastaların setuksimab içeren tedavilere yanıtı ile KRAS mutasyon durumu arasındaki ilişki incelendiğinde 38 hastada KRAS vahşi tip iken 5 hastada ise KRAS mutant olup, 38 vahşi tipin 23 kadarında setuksimab içeren tedaviyle kısmi/stabil yanıt elde edildiği, 5 mutant hastanın 3'ünde stabil yanıt elde edildiği saptandı (tablo 21).

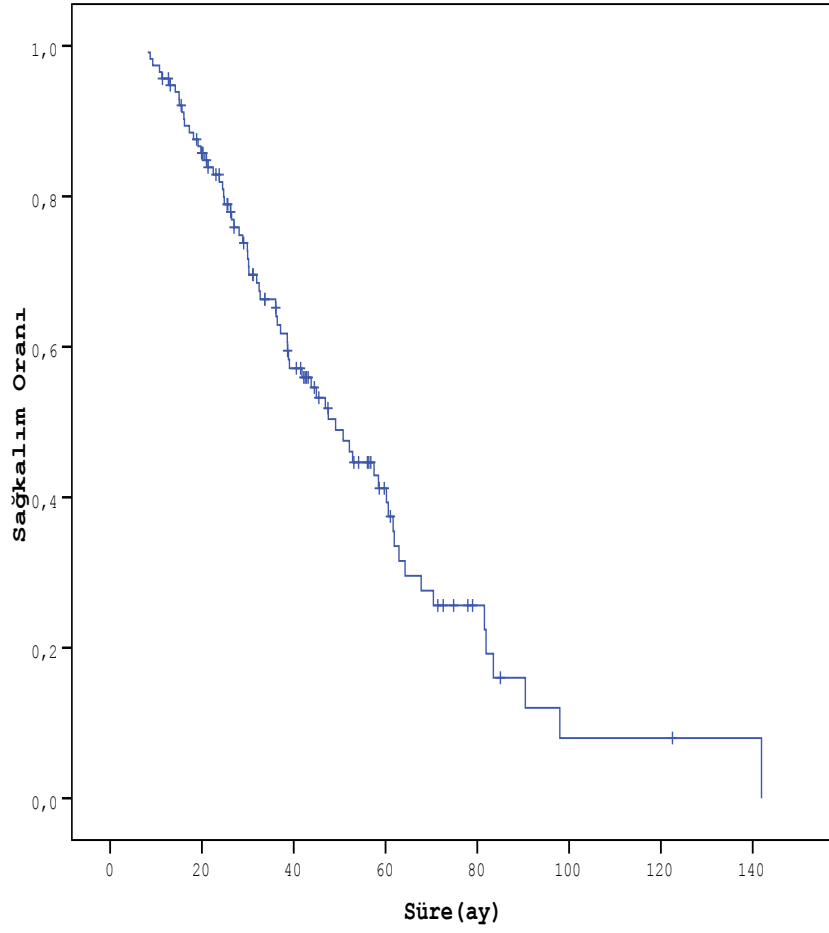
Tablo 21. Metastatik hastalıkta kemoterapi yanıtlarıyla KRAS mutasyon durumu ilişkisi

	KRAS vahşi tip	KRAS mutant tip
Hasta Özellikleri	N (%)	N(%)
İlk sıra KT yanıtı*		
Tam-kısmi-stabil yanıt	55 (77,5)	36 (83,7)
Progresyon	16 (22,5)	7 (16,3)
Setuksimab KT yanıtı*		
Tam-kısmi-stabil yanıt	15 (39,5)	3 (60,0)
Progresyon	23 (60,5)	2 (40,0)

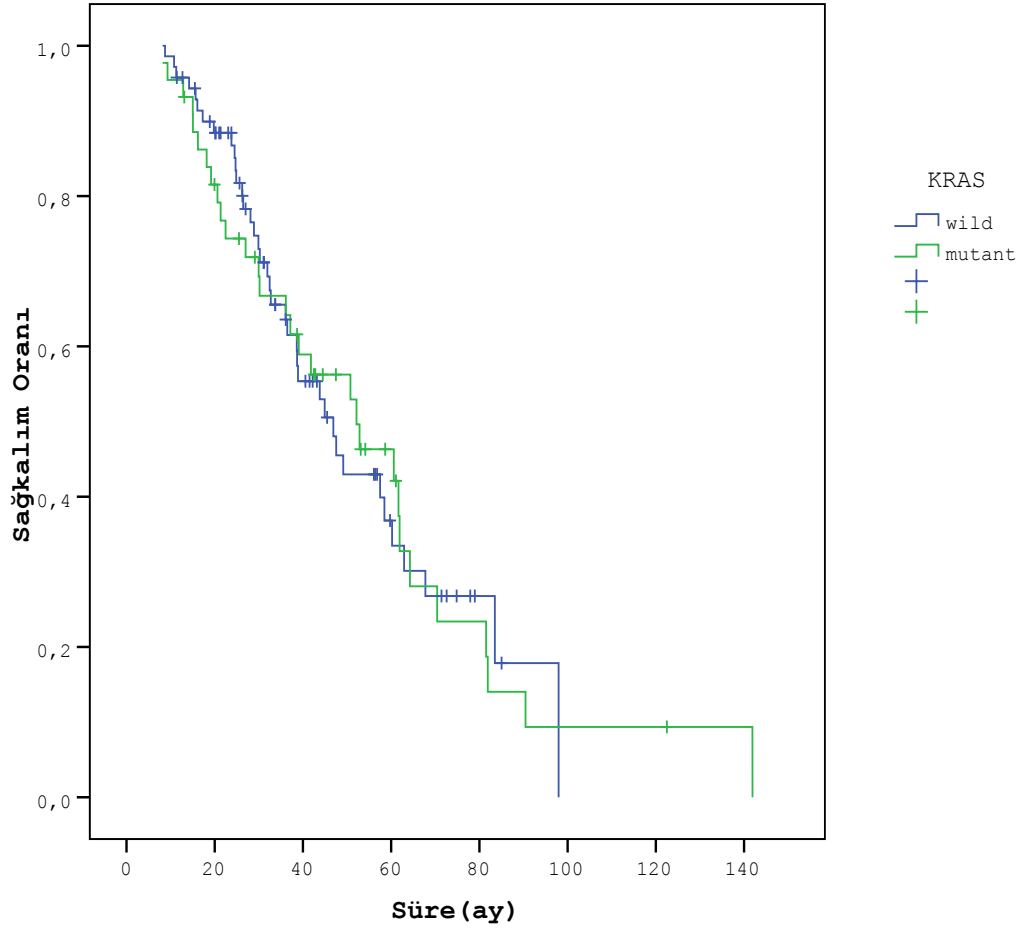
*istatistiksel olarak değerlendirilebilen parametrelerde $p>0.05$

4.SAĞKALIM ANALİZLERİ SONUÇLARI VE KRAS MUTASYON DURUMU SONUÇLARIYLA İLİŞKİSİ

Tüm grubun median takip süresi 36,1 ay idi. Tüm hasta grubunda median genel sağkalım süresi 49,1 ay olarak saptanmış olup 1, 3 ve 5 yıllık OS sırasıyla %96, %66, %41 idi. (Şekil 8). KRAS mutasyon durumu gözönüne alınarak yapılan OS analizinde median sağkalım KRAS vahşi grupta 46,9 ay, mutant grupta ise 52,1 ay olarak saptandı. 1, 3 ve 5 yıllık OS değerlendirildiğinde KRAS vahşi grupta sırasıyla %96, %66, %37 iken, KRAS mutant grupta sırasıyla %96, %67 ve %46 olarak saptandı. Genel sağkalım analizinde KRAS vahşi grup ve mutant grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (tablo 22, şekil 10).



Şekil 9. Tüm grubun genel sağkalım analizi

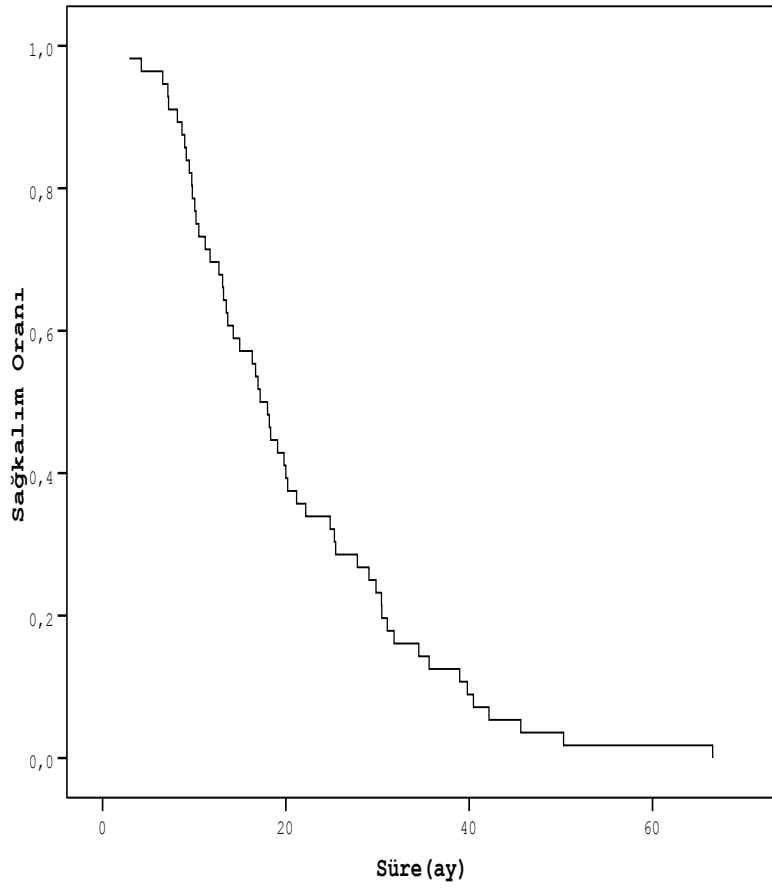


Şekil 10. KRAS mutasyon durumuna göre genel sağkalım analizi

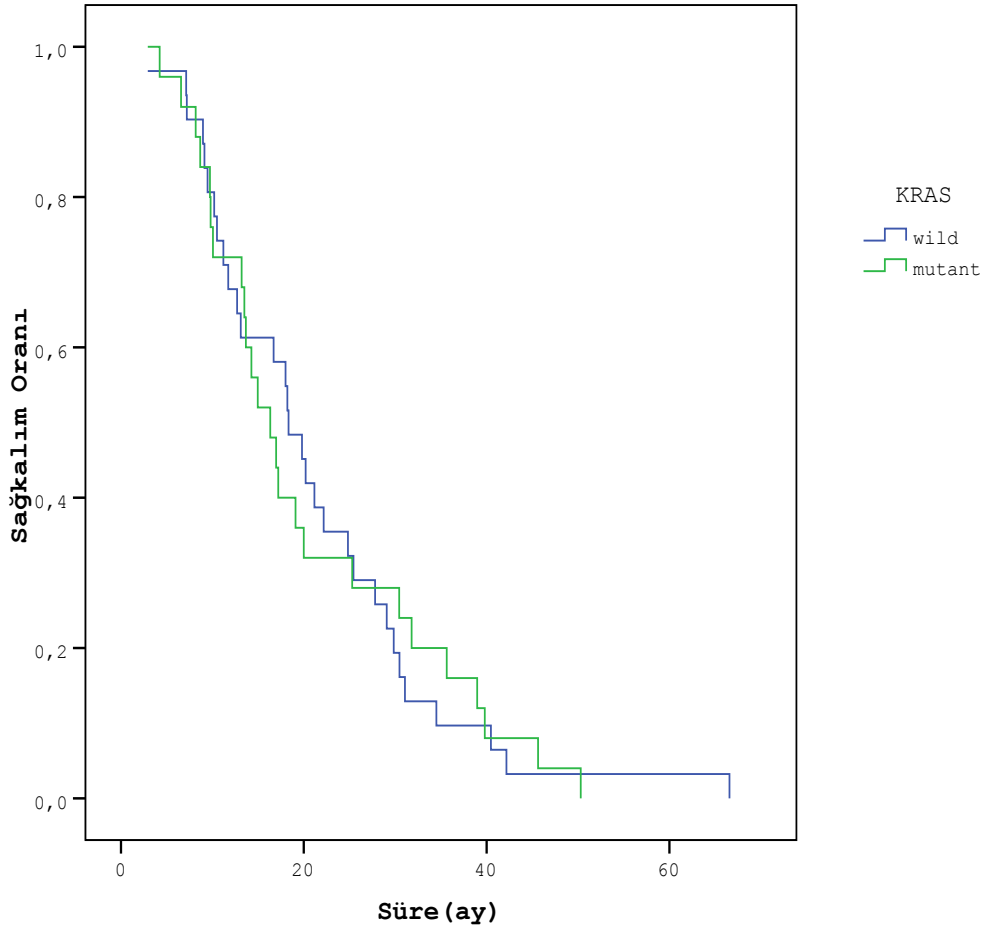
Tablo 22. Tüm hasta grubunda ve KRAS mutasyon durumuna göre sağkalım analizi sonuçları

Parametre	Median (ay)	1-y (%)	3-y (%)	5-y (%)
Genel Sağkalım (OS)				
Tüm grup	49,1	96	66	41
KRAS vahşi tip	46,9	96	66	37
KRAS mutant tip	52,1	96	67	46
Hastalıksız Sağkalım (DFS)				
Tüm grup	17,2	70	14	2
KRAS vahşi tip	18,3	68	10	3
KRAS mutant tip	16,3	72	16	0
Progresyonsuz Sağkalım (PFS)				
Metastatik 1. Sıra tedavi				
Tüm grup	13,1			
KRAS vahşi tip	11,7			
KRAS mutant tip	14,2			
Setuksimab tedavisi				
Tüm grup	4,8			

Tanıda metastaz bulunmayan hastaların hastalıksız sağkalım (DFS) süreleri değerlendirildiğinde tüm hasta grubunda median DFS süresi 17,2 ay saptanmış olup 1, 3 ve 5 yıllık DFS sırasıyla %70, %14, %2 idi (şekil 10). KRAS mutasyon durumuna göre değerlendirildiğinde ise median DFS, KRAS vahşi grupta 18,3 ay, KRAS mutant grupta ise 16,3 ay olarak saptandı. 1, 3, 5 yıllık DFS oranlarına bakıldığında KRAS vahşi grupta sırasıyla %68, %10, %3, KRAS mutant grupta sırasıyla %72, %16, %0 saptandı (şekil 11) KRAS vahşi grup ve mutant grup arasında DFS bakımından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (tablo 22)

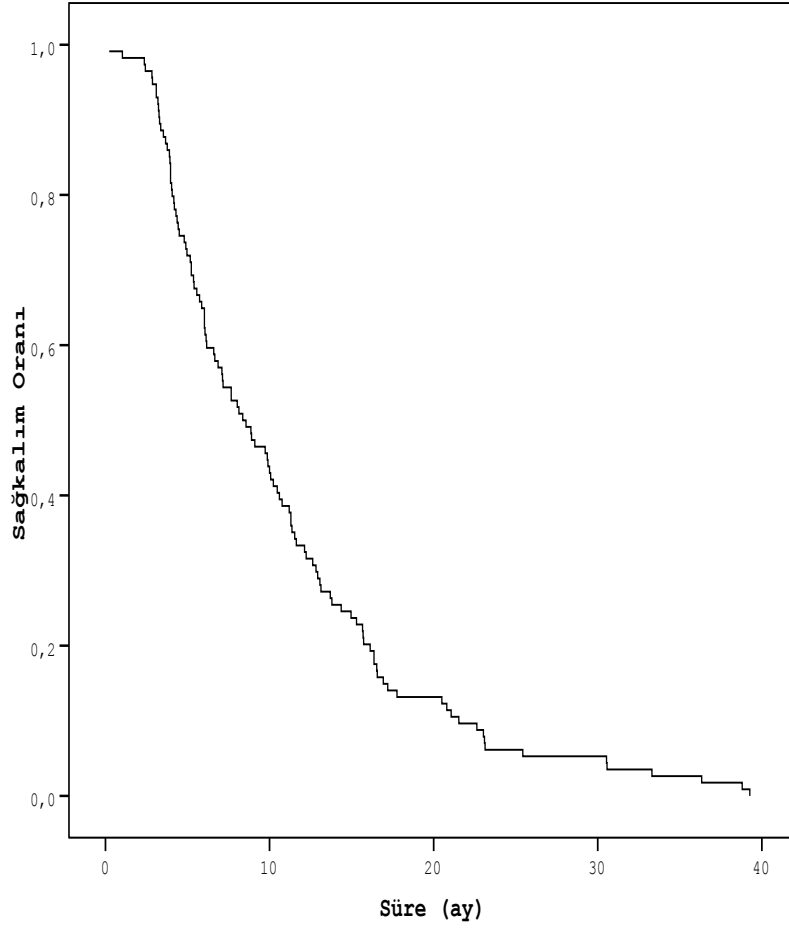


Şekil 11. Tüm grubun hastalıksız sağkalım analizi

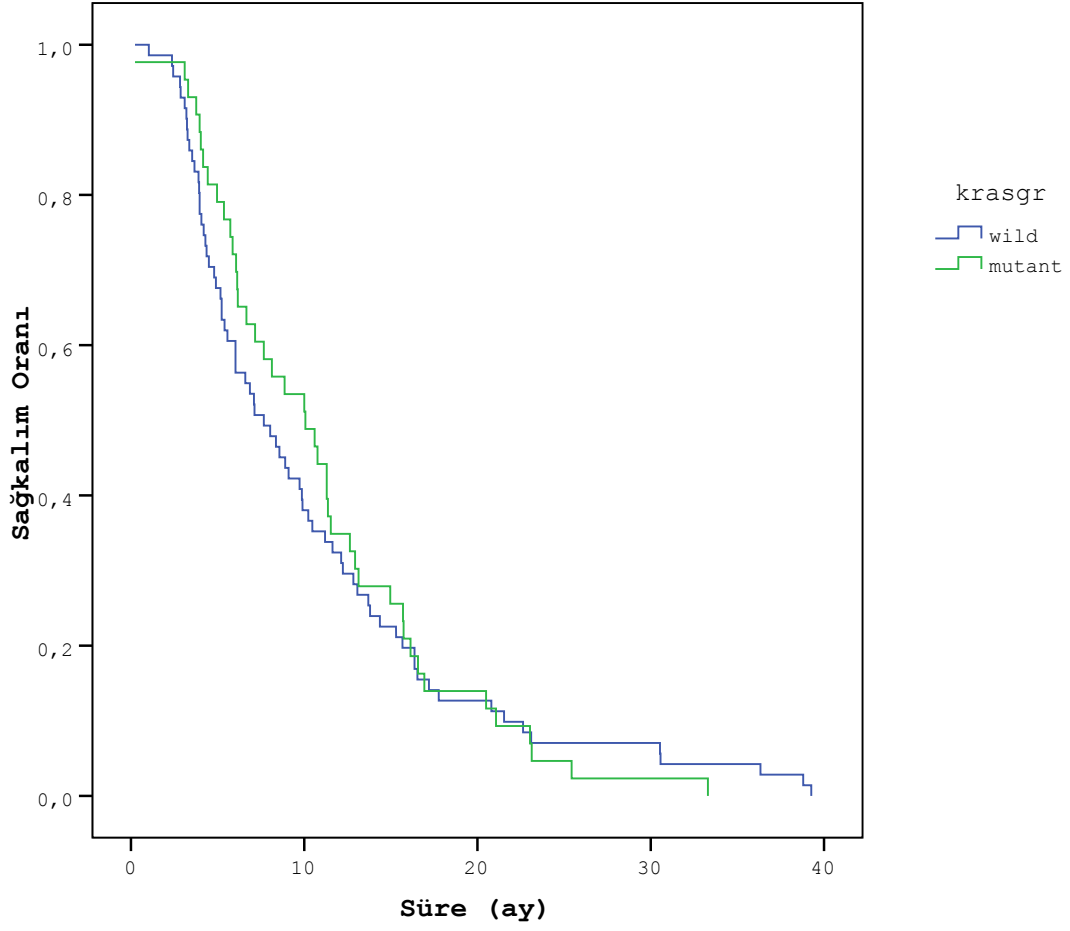


Şekil 12. KRAS mutasyon durumuna göre hastalıksız sağkalım analizi

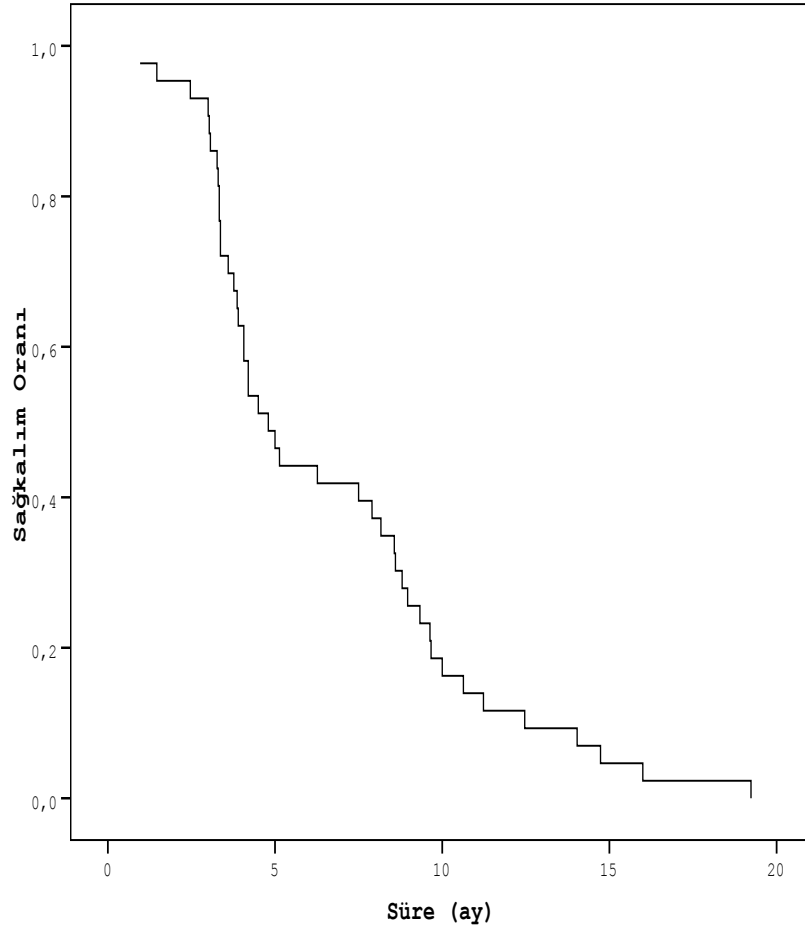
Tüm hasta grubunun metastatik hastalıktaki ilk sıra tedavi sonrası PFS sonucu değerlendirildiğinde tüm hasta grubunda median PFS süresi 13,1 ay olarak saptandı (şekil 13). KRAS mutasyon durumu gözönüne alınarak yapılan PFS analizinde ilk sıra tedavi sonrası median sağkalım KRAS vahşi grupta 11,7 ay iken mutant grupta ise 14,2 ay olarak saptandı, ancak aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (şekil 14). Diğer yandan Setuksimab içeren tedavi alan hastalarda median PFS 4,8 ay olarak saptandı. Setuksimab içeren tedavi alanlar arasında da KRAS mutasyon durumuna göre PFS değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (şekil 15, tablo 22).



Şekil 13. Metastatik hastalıktaki ilk sıra tedavi sonrası tüm hasta grubunda progresyonsuz sağkalım analizi



Şekil 14. Metastatik hastalıktaki ilk sıra tedavi sonrası KRAS mutasyon durumuna göre progresyonsuz sağkalım analizi



Şekil 15. Tüm hasta grubunda setuksimab tedavisi sonrası progresyonsuz sağkalım analizi

E. TARTIŞMA

Bu çalışmada, KRAS mutasyon durumu belirlenmiş olan 115 hastada KRAS mutasyon durumunun klinikopatolojik özelliklerle ilişkisi ve sağkalım üzerine etkisini araştırdık. KRAS mutasyon durumu ile tümör lokalizasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanırken, diğer klinikopatolojik özelliklerle anlamlı bir ilişki saptanmadı. Benzer şekilde KRAS mutasyon durumunun genel sağkalım, hastalıksız sağkalım ve progresyonsuz sağkalım süreleri ile de herhangi bir ilişkisi bulunmadı.

Sporadik kolorektal kanserde KRAS mutasyon sıklığının %30-35 arasında olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak hastaların %38,2'sinde KRAS mutasyonu saptandı (5). Ancak uygulanan KRAS mutasyonu analiz tekniklerindeki farklılıklardan dolayı hastaların tümüne kodon 13 mutasyonu ve BRAF mutasyonu bakılamadı. Bu yüzden gruplar arası homojenite ve sağkalım eğrilerinin karşılaştırmalarında KRAS 13 kodon mutasyonu ve BRAF mutasyonu sonuçları kullanılmadı.

Çalışmamızda KRAS mutasyon durumunun demografik özelliklerle ilişkisi araştırıldığında cinsiyet ve yaş ile KRAS mutasyon durumu arasında bir ilişki saptanmadı. Literatürde de KRAS mutasyon durumu ile cinsiyet ve yaş arasında bir ilişki olmadığı bildirilmektedir (136,137,138). Benzer şekilde performans durumu ile KRAS mutasyon durumu arasında da herhangi bir ilişki saptanmadı. Literatürde bildirilen bir çalışmada performans statüsü ile KRAS mutasyon durumu arasında bir ilişki saptanmazken, bir diğer çalışmada ise KRAS-vahşi tip grubun performans statüsünün daha iyi olduğu rapor edilmiştir (136,139).

Çalışmamızda vücut kitle indeksi ile KRAS mutasyon durumu arasında bir ilişki saptanmadı. Literatürde vücut kitle indeksinin artışı ile kolon kanserinin özellikle ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunsa da KRAS mutasyon durumu ile vücut kitle indeksi arasında bir ilişki olmadığı belirtilmektedir (140,141). Sadece bir çalışmada KRAS mutant olan kadın hastaların daha fazla vücut kitle indeksine sahip olduğu bildirilmiştir (138).

Çalışmamızda sigara içme alışkanlığı ile KRAS mutasyon durumu arasında bir ilişki saptanmadı. Literatürde özellikle sigara içen akciğer kanserli hastalarda KRAS mutasyon sıklığının daha yüksek olduğu bildirilirken kolon kanserli hastalar için aynı durumun geçerliliği net değildir (142). Bazı çalışmalarda sigara içme alışkanlığı ile vahşi tip KRAS taşıyan KRK arasında ilişki olduğu ifade edilirken bazılarında ise böyle bir ilişki saptanmadığı belirtilmektedir (138,143). Bir çalışmada sigara içen hastaların CpG adacık metilatör fenotipi ve V600EBRAF mutasyonlarıyla ilişkili olduğu saptanmıştır (144). Bu

Çalışma sonuçları sigara içme alışkanlığı ile KRAS vahşı tip, CIMP ve ya da BRAF mutant tümörlerin ilişkili olduğunu düşündürmektedir (77).

Çalışmamızda KRAS mutasyon durumunun klinikopatolojik özelliklerle ilişkisi değerlendirildiğinde tümör lokalizasyonu ile anlamlı bir ilişki saptanırken, diğer klinikopatolojik özelliklerle arasında herhangi bir ilişki saptanmadı. KRAS vahşı tip saptanan grupta proksimal kolon tutulumunun daha fazla olduğu görüldü. Literatürde bazı çalışmalarda KRAS mutasyon durumu ile tümör lokalizasyonu arasında bir ilişki olduğu belirtilirken çoğunluğunda belirgin bir ilişki olmadığı ifade edilmektedir. Öte yandan BRAF mutasyonları ile klinikopatolojik bazı özelliklerinin ilişkili olduğu ve BRAF mutasyonu olan tümörlerin daha çok sağ taraf yerleşimli tümörler olduğu bildirilmektedir (139, 145, 146).

Metastatik KRK'li hastalarda yapılmış olan bir diğer çalışmada ise hastalar KRAS/BRAF vahşı tip, KRAS 12 mutasyonu, KRAS 13 mutasyonu ve BRAF mutasyonuna (V600E) sahip olanlar şeklinde 4 gruba ayrılmış ve KRAS 13 mutasyonuna sahip olan grubun sağ taraf tutulumlu tümörlerle ilişkili olduğu saptanmıştır (139). Mikrosatellit instabilitesi yüksek (MSI-H) olan sağ kolon yerleşimli tümörlerde BRAF mutasyonu oranının yüksek olduğu ve paradoks olarak bu tümörlerde uzak metastaz sıklığının daha az olduğu ve sağkalımın daha uzun olduğu saptanmıştır (59). Bizim hastalarımızın proksimal kolonu tutan hasta grubunda KRAS vahşı tip daha fazla saptanmış olsa da, hastaların tümünde BRAF mutasyon durumu bilinmemektedir. BRAF ve KRAS mutasyonları birbirlerinden bağımsız oluşabilen iki mutasyon tipi olduğu için bu hastalar BRAF mutasyonuna sahip olabilir.

KRAS mutasyon durumu ile patolojik özellikler arasındaki ilişki değerlendirildiğinde tümörün histojik alt tipi, tümör derecesi, lenfovasküler ve perinöral invazyon, pT ve pN evreleri, mikrosatellit instabiliteyi ile ilişkili bulgulardan peritümöral lenfositik yanıt ve intratümöral yanıt gibi patolojik özelliklerle KRAS mutasyon durumu arasında herhangi bir anlamlı bir ilişki saptanmadı (136,139). Zlobec ve ark. yaptığı ve 404 hastanın incelendiği bir çalışmada tümörün histolojik tipi, pT, pN, tümör derecesi, vasküler invazyon, peritümöral lenfositik yanıt değerlendirilmiş ve KRAS mutant ve vahşı hasta grubunda herhangi bir anlamlı ilişki saptanmazken, BRAF mutasyonunun MSI-H olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu fakat KRAS mutasyon durumu ile böyle bir ilişkinin bulunmadığı saptanmıştır (137). Diğer çalışmalarda da MSI-H olan tümörlerle sadece BRAF mutasyonu arasındaki anlamlı birliktelik gösterilmiştir (147,148).

Yapılan çalışmalarda BRAF mutasyonu pozitif KKK'li hastaların daha çok kötü differansiye adenokarsinom ya da müsinöz adenokarsinoma sahip oldukları gösterilmesine rağmen KRAS mutasyon durumuna göre böyle bir ilişki saptanmamıştır (137,139). Evre II ve III KKK'li hastaların değerlendirildiği bir çalışmada KRAS mutasyonu saptanmış olan hastaların daha iyi differansiye tümörlerle ilişkili olduğu saptanmasına rağmen yapılan diğer çalışmalarda KRAS mutasyon durumu ile tümör derecesi arasında bir korelasyon olmadığı belirtilmiştir (136,139,149). Modest ve ark. 273 KKK'li hastada yaptıkları çalışmada ise tanıda evrelemede lenf nodu tutulumunun varlığının, KRAS 13 mutasyon grubunda istatistiksel olarak anlamlı olarak daha fazla olduğunu saptamışlardır (136). KRAS mutasyon durumu ile metastaz bölgeleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde KRAS mutasyon durumu ile metastaz bölgeleri ve sayıları arasında herhangi bir ilişki saptanmadı. Literatürde metastaz bölgeleri ile KRAS mutasyon durumu arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışma sonuçlarının çelişkili olduğu, bir çalışmada KRAS mutant tümörlerde belirgin olarak daha fazla akciğer ve beyin metastazı saptandığı bildirilmektedir (150). Yapılan bir diğer çalışmada ise akciğer metastazlarının özellikle KRAS 13 kodon mutasyonunda daha fazla görüldüğü belirtilmiştir. KRAS kodon 13 mutasyonu olan hastalar, kodon 12 mutasyonu olan hastalarla karşılaştırıldığında belirgin daha fazla senkron nodal ve organ metastazına sahip oldukları belirtilmiştir (151). Benzer şekilde iki veya daha fazla organ metastazı görülme sıklığının özellikle kodon 13 mutasyonu olan hastalarda daha fazla olduğu saptanmıştır (136,139). KRAS mutasyon durumu ile ileri ve rekürren KKK hastaların klinikopatolojik özelliklerin değerlendirildiği bir diğer çalışmada ise periton metastazı sıklığının diğer KKK subtiplerinde %15 görülürken, BRAF mutasyonu olan hastalarda %60 olduğu saptanmıştır (139).

KRAS mutasyonu anti-EGFR tedavilere yanıtızlığın spesifik bir negatif prediktörüdür ve anti-EGFR tedavi adayı olan tüm hastalarda bakılmalıdır. KRAS mutasyonu olan hastalarda ilk sıra ya da ardışık tedavilerde setuksimab ya da panitumumab tedavisine yanıtızlıkla ilişkili olduğu birkaç retrospektif analizde bildirilmiştir (10,11,12,114,152). Çalışmamızda yer alan 43 hastaya setuksimab tedavisi uygulanmış olup, bu hastaların sadece 5'i KRAS mutant tip saptanmıştır. Bu hastalara mutasyon durumu belirlenmeden tedavi verilmesinin nedeni o dönemde kliniğimizde KRAS mutasyon durumuna bakılamaması ve bu hastalara tedavi verildikten sonraki süreçte KRAS mutasyon testinin yapılabilmiş olmasıdır. KRAS vahşi tip olanlarda %39,5 yanıt elde edilmiştir. KRAS mutasyonu olan beş hastaya ise setuksimab tedavisi dördüncü ve beşinci sırada uygulanmıştır. 5 hastanın 3'ünde tedavi sonrası stabil yanıt ve 2'sinde progresyon gözlenmiştir. Diğer kemoterapötik ajanlara dirençli

olan bu hastalarda setuksimabın dördüncü ve beşinci sırada kullanımı sonrası elde edilen yanıtların, KRAS kodon 13 mutasyon pozitifliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir. KRAS mutasyonu, anti-EGFR tedaviye yanıtsızlıkla ilişkili olduğu için KRAS kodon 12 ya da kodon 13 mutasyonu taşıyan hastalara anti-EGFR monoklonal antikorların kullanımından kaçınılmıştır. Bununla beraber bir çalışmada KRAS mutant olan bir hastanın da setuksimab tedavisine yanıt verdiği saptanması üzerine daha sonra yapılan çalışmalarda KRAS mutant hastalarda alt tiplere göre anti-EGFR tedavi yanıtı incelenmeye başlanmıştır (10). Son olarak yapılmış bir retrospektif analizde 579 kemoterapi dirençli hasta incelenmiş ve KRAS kodon 13 mutasyonu olan hastalar arasında setuksimab tedavisi ile en iyi destek tedavi yapılanlar karşılaştırılmış ve setuksimab alan hastalarda daha uzun PFS ve OS saptanmıştır. Buna karşın diğer KRAS mutasyonlarına sahip hastalar tedaviden fayda görmemiştir (153).

Çalışmamızda neoadjuvan kemoradyoterapilere alınan yanıt, metastatik hastalıkta ilk sıra tedavide uygulanan irinotekan, okzaliptatin ya da bevasizumab bazlı farklı kemoterapötik tedavilere yanıt ile KRAS mutasyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. KRAS ve BRAF mutasyonunun anti-EGFR antikor tedavilerine yanıtsızlığı gösterdiği bilinmekle birlikte QUASAR çalışmasında FU/FA kemoterapisine yanıt oranları ile bu mutasyonların durumu arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. İrinotekan ve okzaliptatine olan yanıtla da bu mutasyon durumları arasında ilişkili saptanmamıştır. Bu da göstermektedir ki anti-EGFR antikorlarla, diğer DNA- hasarına bağlı etki gösteren kemoterapötik ajanların direnç mekanizması birbirinden farklıdır (154).

Bevasizumab içeren tedavilere yanıtla da KRAS mutasyon durumu arasında bir ilişki saptanmamıştır. VEGF ekspresyonu ile KRAS mutasyon durumunun değerlendirildiği bir çalışmada ikisi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu da göstermektedir ki VEGF hedefleyen antiangiogenik tedavilerin etkinliği KRAS mutasyon durumundan bağımsızdır (155,156).

KRAS mutasyon durumunun sağkalım üzerine etkisi değerlendirildiğinde genel sağkalım, hastalıksız sağkalım ve progresyonsuz sağkalım ile KRAS mutasyon durumu arasında bir ilişkili olmadığı saptandı. Literatürde KRAS mutasyon durumunun sağkalımla ilişkisini araştıran çalışmalarda sonuçların farklılık gösterdiği dikkati çekmektedir. 1404 evre II ve III kolon kanseri hastalarının değerlendirildiği bir çalışmada KRAS mutasyon durumunun relapssız sağkalım ve genel sağkalım için prognostik bir değeri olmadığı gösterilmiştir (19).

Evre II, III kolon kanser hastalarında BRAF ve KRAS mutasyonunun prognoza olan etkisinin değerlendirildiği bir diğer çalışmada ise, BRAF mutasyonunun yaş, cinsiyet, tümörün yerleşim yeri, MSI durumu, KRAS mutasyon durumu, tümörün differansiyasyon derecesi, tümörün T ve N evrelemesinden bağımsız olarak kötü prognostik bir belirteç olduğu belirtilirken KRAS mutasyon durumunun uzak metastaz ya da lokal relapsla herhangi bir ilişkisinin olmadığı belirtilmiştir (149). Roth ve arkadaşlarının Evre II ve III rezeke edilmiş kolon kanseri hastalarında yapmış oldukları PETACC-3, EORTC 40993, ve SAKK 60-00 çalışmalarının değerlendirildiği bir translasyonel çalışmada da, bu üç çalışmanın KRAS mutasyon durumuna göre PFS ve OS farkını öngörmek için prognostik değerini belirlemede yetersiz olduğunu göstermişlerdir (19). Benzer şekilde birçok retrospektif çalışmada da KRAS mutasyon durumunun prognostik bir değer taşımadığı belirtilmiştir (16,157,158).

Öte yandan evre 3 KKK hastalarında FOLFOX ve setuksimabın değerlendirildiği N0147 çalışmasında, KRAS vahşi tip hasta grubunun 3 yıllık DFS'nin daha iyi olduğu saptanmıştır. Bütün bu analizler sonucunda KRAS mutasyon durumunun bağımsız bir prognostik faktör olduğu düşünülebilir (159). Yapılan bir diğer çalışmada da KRAS, NRAS ve BRAF mutasyonu olan grupta, KRAS, NRAS ve BRAF vahşi tip olan grup karşılaştırıldığında tedaviden bağımsız olarak medyan OS'nin daha kısa olduğu saptanmıştır (124). Bunu destekleyecek şekilde bir diğer çalışmada da, KRAS mutant tümörlerin KRAS vahşi tip tümörlerle kıyaslandığında evre ya da kemoterapiden bağımsız olarak rekürrens riskinin daha fazla olduğunu saptamışlardır (145). Toplam 22 çalışmanın değerlendirildiği bir metaanalizde median PFS ve OS'nin KRAS mutasyonu olan hastalarda belirgin daha kısa olduğu ve KRAS mutasyonunun tümör yanıtı ve sağkalımda negatif bir prognostik ve prediktif faktör olarak değerlendirilebileceğini belirtilmiştir (160). Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda median PFS ve OS'nin KRAS mutasyonu olan hastalarda kısa olmasının nedeninin kullanılan anti-EGFR tedavilere bağlı olabileceği belirtilmiştir (161).

KRAS'ın kodon 12 mutasyonunun da prognoz açısından ayrı bir önem taşıdığı ifade edilmektedir. Farklı merkezlerden toplam 4268 hastanın değerlendirildiği RASCAL II çalışmasında sadece ileri evre (Duke-C) hastalarda KRAS'ın kodon 12 mutasyonunun kötü prognoz göstergesi olduğu ve %50'sinde relaps ve ölüm riskinde artışla ilişkili olduğu saptanmıştır (14). Bazan ve ark. primer KKK tanısı olan ve cerrahi olmuş hastalarda KRAS 13 mutasyonunun artmış relaps riski ya da ölümle ilişkili olduğunu göstermişlerdir (151). Bununla uyumlu olarak Yokota ve ark. yapmış olduğu ileri evre ya da rekürren KKK hastalarında yapılan bir diğer çalışmada ise KRAS 13 mutasyonu olan hastaların diğer KRAS mutasyonlarına sahip hastalara ya da KRAS, BRAF vahşi tip hastalara oranla daha kötü OS'e

sahip olduklarını bildirmişlerdir (139). KRAS mutasyonu olan Evre III hastaların KRAS vahşi tip hastalara kıyasla belirgin olarak daha kötü DFS sahip olmasının nedeni kısmi olarak, KRAS 13 mutasyonlarının prognoza belirgin olumsuz etkilerinin yansımaları şeklinde açıklanabileceği belirtilmiştir (149,159). Bütün bunlar bir arada ele alındığında kodon 12 ve kodon 13 mutasyonları, farklı biyolojik, biyokimyasal, ve fonksiyonel değişikliklere yol açarak KRK'de prognozu etkilemektedir (151). Çalışmamızda kodon 13 mutasyon alt tipinin bilinmemesi ve sadece KRAS mutasyon durumuna göre sağkalım analizlerinin yapılmasından ötürü her iki grupta herhangi bir fark saptanmamış olabileceğini düşünmekteyiz. KRK'de KRAS mutasyonlarının prognostik rolü ile ilgili birçok çalışma yapılmış olsa da, KRAS'ın prognostik değeri konusunda kesin bir sonuca varılamamıştır (162). Bunun nedeni çalışma büyüklüklerinin ve hasta seçim kriterlerinin her merkeze göre farklılık göstermesi ve tümör örnekleme, arşiv ya da taze doku kullanılması gibi laboratuvar metodları farklılıkları olabilir.

Çalışmamızın retrospektif ve göreceli olarak az sayıda hasta ile yapılmış olması ve spesifik KRAS mutasyon alt tipleri ve BRAF mutasyon durumu belirlenmemiş olsa da KRAS mutasyon durumunun literatürdeki bilgiler ışığında prognozu belirlemede bir belirteç olarak kullanılamayacağını söyleyebiliriz. KRAS mutasyon durumunun klinikopatolojik özelliklerle ve prognozla ilişkisi ile ilgili kesin sonuçlara varılabilmesi için spesifik KRAS mutasyon alt tiplerinin ve BRAF mutasyon tiplerinin bulunduğu homojen hasta gruplarında yapılacak, geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

F. SONUC ve ÖNERİLER

KRAS mutasyon durumu ile klinikopatolojik özelliklerin ilişkisinin araştırıldığı çalışmamızda KRAS mutasyon durumu ile tümör lokalizasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanırken, diğer klinikopatolojik özelliklerle anlamlı bir ilişki saptanmadı. Benzer şekilde KRAS mutasyon durumunun sağkalım üzerine de herhangi bir etkisi saptanmadı. KRAS mutasyon durumunun klinikopatolojik özelliklerle ve prognozla ilişkisi ile ilgili kesin sonuçlara varılabilmesi için spesifik KRAS mutasyon alt tiplerinin ve BRAF mutasyon tiplerinin bilindiği homojen hasta gruplarında yapılacak, geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca bu mutasyon durumlarının bilinmesi hem tedavi yanıtlarını öngörmeye hem de prognozu değerlendirmede klinisyenlere daha yardımcı olabilir.

G. KAYNAKLAR

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2012 ;62:10-29
2. Van Cutsem E, Nordlinger B, Adam R, Köhne CH, et al. European Colorectal Metastases Treatment Group. Towards a pan-European consensus on the treatment of patients with colorectal liver metastases. *Eur J Cancer*. 2006; 42:2212-21.
3. Worthley DL, Whitehall VL, Spring KJ, Leggett BA. Colorectal carcinogenesis: road maps to cancer. *World J Gastroenterol*. 2007;13:3784-91.
4. Russo A, Rizzo S, Bronte G, Silvestris N, et al. The long and winding road to useful predictive factors for anti-EGFR therapy in metastatic colorectal carcinoma: the KRAS/BRAF pathway. *Oncology*. 2009;77:57-68.
5. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*. 1988;319:525-32.
6. Arteaga C. Targeting HER1/EGFR: a molecular approach to cancer therapy. *Semin Oncol*. 2003;30:3-14.
7. Arteaga CL. Overview of epidermal growth factor receptor biology and its role as a therapeutic target in human neoplasia. *Semin Oncol*. 2002;29:3-9.
8. Fang JY, Richardson BC. The MAPK signalling pathways and colorectal cancer. *Lancet Oncol*. 2005;6:322-7.
9. Ikenoue T, Hikiba Y, Kanai F, Tanaka Y, et al. Functional analysis of mutations within the kinase activation segment of B-Raf in human colorectal tumors. *Cancer Res*. 2003;63:8132-7.
10. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, O'Callaghan CJ, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2008;359:1757-65.
11. Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A, Hartmann JT, et al. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2009 ;27:663-71.
12. Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2008 ;26:1626-34.
13. Schubbert S, Shannon K, Bollag G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007;7:295-308.

14. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, Oates J, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study. *Br J Cancer*. 2001;85:692-6.
15. Yokota T. Are KRAS/BRAF mutations potent prognostic and/or predictive biomarkers in colorectal cancers? *Anticancer Agents Med Chem*. 2012;12:163-71.
16. Bouzourene H, Gervaz P, Cerottini JP, Benhattar J, et al. p53 and Ki-ras as prognostic factors for Dukes' stage B colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2000;36:1008-15.
17. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology*. 2007;50:113-30.
18. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, Oates JR, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the multicenter "RASCAL" study. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:675-84.
19. Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, Yan P, et al. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol*. 2010;28:466-74.
20. Samowitz WS, Sweeney C, Herrick J, Albertsen H, et al. Poor survival associated with the BRAF V600E mutation in microsatellite-stable colon cancers. *Cancer Res*. 2005 15;65:6063-9.
21. Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:1893-6.
22. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010;60:277-81.
23. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999;49:33-8.
24. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1998. *CA Cancer J Clin* 1998;48:6-9.
25. Nelson RL, Persky V, Turyk M. Determination of factors responsible for the declining incidence of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1999;42:741-7.
26. Steven K. Libutti, Leonard B. Saltz, et al. *Tepper Cancers of the Gastrointestinal Tract: Section 8: Cancer of the Colon*. In Devita (eds). *Principles and Practice of Oncology*. 7th edition, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2005, pp 1061-1109.
27. Rustgi AK. Hereditary gastrointestinal polyposis and nonpolyposis syndromes. *N Engl J Med* 1994;331:1694-9.
28. Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, Papadopoulos N, et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. *N Engl J Med*. 1995;332:839-47-52.

29. Powell SM, Petersen GM, Krush AJ, Booker S, et al. Molecular diagnosis of familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med.* 1993;329:1982-7.
30. Marra G, Boland CR. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: the syndrome, the genes, and historical perspectives. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:1114-25.
31. Chung DC, Rustgi AK. The hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications. *Ann Intern Med.* 2003;138:560-70.
32. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, et al. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med.* 1994;331:1669-74.
33. Ponz de Leon M, Scapoli C, Zanghieri G, Sassatelli R, et al. Genetic transmission of colorectal cancer: exploratory data analysis from a population based registry. *J Med Genet.* 1992;29:531-8.
34. Ahsan H, Neugut AI, Garbowski GC, Jacobson JS, et al. Family history of colorectal adenomatous polyps and increased risk for colorectal cancer. *Ann Intern Med.* 1998 ;128:900-5.
35. Karlén P, Löfberg R, Broström O, Leijonmarck CE, et al. Increased risk of cancer in ulcerative colitis: a population-based cohort study. *Am J Gastroenterol.* 1999 ;94:1047-52.
36. Schoen RE, Tangen CM, Kuller LH, Burke GL, et al. Increased blood glucose and insulin, body size, and incident colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1999 7;91:1147-54.
37. Meyerhardt JA, Giovannucci EL, Holmes MD, Chan AT, et al. Physical activity and survival after colorectal cancer diagnosis. *J Clin Oncol.* 2006;24:3527-34.
38. Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst.* 1999 ;91):916-32.
39. Key TJ, Fraser GE, Thorogood M, et al. Mortality in vegetarians and nonvegetarians: detailed findings from a collaborative analysis of 5 prospective studies. *Am J Clin Nutr* 1999;70:516-9.
40. Burkitt DP. Epidemiology of cancer of the colon and rectum. 1971. *Dis Colon Rectum.* 1993;36:1071-82.
41. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, et al. Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med.* 1999;340:169-76.
42. Wargovich MJ. New dietary anticarcinogens and prevention of gastrointestinal cancer. *Dis Colon Rectum.* 1988;31:72-5.

43. Seitz HK, Simanowski UA, Garzon FT, Rideout JM, et al. Possible role of acetaldehyde in ethanol-related rectal cocarcinogenesis in the rat. *Gastroenterology*. 1990;98:406-13.
44. Smalley W, Ray WA, Daugherty J, Griffin MR. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and incidence of colorectal cancer: a population-based study. *Arch Intern Med*. 1999;159:161-6.
45. Lü B, Xu J, Lai M, Zhang H, Chen J. A transcriptome anatomy of human colorectal cancers. *BMC Cancer*. 2006;6:40-7.
46. Romolo J.L. Embryology and anatomy of the colon Shackelford's Surgery of the alimentary Tract, 1996;16:4-7.
47. Hassan C, Zullo A, Risio M, Rossini FP, et al. Histologic risk factors and clinical outcome in colorectal malignant polyp: a pooled-data analysis. *Dis Colon Rectum*. 2005;48:1588-96.
48. Kang H, O'Connell JB, Maggard MA, Sack J, et al. A 10-year outcomes evaluation of mucinous and signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum*. 2005;48:1161-8.
49. Gryfe R. Clinical implications of our advancing knowledge of colorectal cancer genetics: inherited syndromes, prognosis, prevention, screening and therapeutics. *Surg Clin North Am* 2006;86:787–817.
50. Lynch JP, Hoops TC. The genetic pathogenesis of colorectal cancer. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2002;16:775-810.
51. Garcea G, Sharma RA, Dennison A, Steward WP, et al. Molecular biomarkers of colorectal carcinogenesis and their role in surveillance and early intervention. *Eur J Cancer*. 2003;39:1041-52.
52. Noffinger AE. Serrated polyps and colorectal cancer: new pathway to malignancy. *Annu Rev Pathol* 2009; 4:343-7.
53. Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Andrews KS, et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology*. 2008;134:1570-95.
54. Winawer SJ, Zauber AG, O'Brien MJ, O'Brien MJ, et al. The National Polyp Study. Design, methods, and characteristics of patients with newly diagnosed polyps. The National Polyp Study Workgroup. *Cancer* 1992;70:1236-41.

55. Jones S, Chen WD, Parmigiani G, Diehl F, et al. Comparative lesion sequencing provides insights into tumor evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:4283-8.
56. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 2004;10:789.
57. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-61.
58. Hamilton SR, Bosman FT, Boffetta P. Carcinoma of The Colon Rectum. (2010). WHO Classification of Tumours of the Digestive System, 4th edition, pages 132-173.
59. Jass, JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology* 2007;50: 113-30.
60. Snover D C. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol*. 2011;42:1-10.
61. Fodde R. The APC gene in colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2002;38: 867-71.
62. Takayama T, Miyanishi K, Hayashi T, Sato Y, et al. Colorectal cancer: genetics of development and metastasis. *J Gastroenterol* 2006; 41: 185-92.
63. Kumar, A., Fausto, Michell (2010). Robbins Pathologic Basis of Disease. 8th edition , chapter 17 pages 817-825.
64. Hickman ES, Moroni MC, Helin K. The role of p53 and pRB in apoptosis and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2002;12: 60-6.
65. Castagnola P, Giaretti W. Mutant KRAS, chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer. *Biochim Biophys Acta* 2005;1756: 115-25.
66. Iacopetta B, Grieu F. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Asia Pac J Clin Oncol* 2010;6: 260-9.
67. Jacob S. and Praz F. DNA mismatch repair defects: role in colorectal carcinogenesis. *Biochimie* 2002; 84: 27-47.
68. Iwasa, Lengauer C, Nowak MA. Dynamics of colorectal cancer. *Semin Cancer Biol* 2005;15: 484-93.
69. Klug W, Charlotte CM, Spencer A , Michael A. Palladino (2008). 8th edition chapter 18, Concepts of Genetics. pages 435-455.).
70. Chu Chuang JC and Jones PA. Epigenetics and microRNAs. *Pediatr Res* 2007;61: 24-29.
71. Sulewska A, Niklinska W, Kozłowski M, Minarowski L, et al. Detection of DNA methylation in eucaryotic cells. *Folia Histochem Cytobiol* 2007;45: 315-24.

72. Poehlmann A, Kuester D, Meyer F, Lippert H, et al. K-ras mutation detection in colorectal cancer using the Pyrosequencing technique. *Pathol Res Pract*. 2007;203:489-97.
73. Pretlow TP. Aberrant crypt foci and K-ras mutations: earliest recognized players or innocent bystanders in colon carcinogenesis? *Gastroenterology* 1995;108:600-5.
74. Jiang Y, Mackley H, Cheng H, Ajani JA. Use of K-Ras as a predictive biomarker for selecting anti-EGF receptor/pathway treatment. *Biomark Med*, 2010;4:535-41.
75. Zeng M, Kikuchi H, Pino MS, Chung DC. Hypoxia activates the K-ras proto-oncogene to stimulate angiogenesis and inhibit apoptosis in colon cancer cells. *PLoS One*. 2010;5:10966-9.
76. Rajagopalan H, Bardelli A, Lengauer C. Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature* 2002;418:934-9.
77. Tanaka H, Deng G, Matsuzaki K, Kakar S, et al. BRAF mutation, CpG island methylator phenotype and microsatellite instability occur more frequently and concordantly in mucinous than non-mucinous colorectal cancer. *Int J Cancer* 2006;118:2765-9.
78. Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* 2002;296:1655-9
79. Li W, Zhu T, Guan KL. Transformation potential of Ras isoforms correlates with activation of phosphatidylinositol 3-kinase but not ERK. *J Biol Chem* 2004;279:37398/402.
80. Raponi M, Winkler H, Dracopoli NC. K-RAS mutations predict response to EGFR inhibitors. *Curr Opin Pharmacol*. 2007;8: 413–418.
81. Garcia-Foncillas J, Diaz-Rubio E. Progress in metastatic colorectal cancer: growing role of cetuximab to optimize clinical outcome. *Clin Transl Oncol*. 2010; 12:533-42.
82. Nollau P, Moser C, Weinland G, Wagener C. Detection of K-ras mutations in tools of patients with colorectal cancer by mutant-enriched PCR. *Int J Cancer*. 1996;66:332-6.
83. Fenlon HM, Nunes DP, Schroy PC 3rd, Barish MA, Clarke PD, Ferrucci JT. A comparison of virtual and conventional colonoscopy for the detection of colorectal polyps. *N Engl J Med*. 1999 Nov 11;341:1496-503.
84. Pickhardt PJ, Choi JR, Hwang I, Butler JA, et al. Computed tomographic virtual colonoscopy to screen for colorectal neoplasia in asymptomatic adults. *N Engl J Med*. 2003;349:2191-200.

85. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med. 2000;124:979-94.
86. Edge SB, Byrd DB, Compton CC., eds. AJCC cancer staging manual . 7th ed. New York: Springer, 2010.
87. Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, et al; National Cancer Institute Expert Panel. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. J Natl Cancer Inst. 2001 ;93:583-96.
88. Laurie JA, Moertel CG, Fleming TR, Wieand HS, et al. Surgical adjuvant therapy of large-bowel carcinoma: an evaluation of levamisole and the combination of levamisole and fluorouracil. The North Central Cancer Treatment Group and the Mayo Clinic. J Clin Oncol. 1989;7:1447-56.
89. Andre T, Colin P, Louvet C, Gamelin E, et al. Semimonthly versus monthly regimen of fluorouracil and leucovorin administered for 24 or 36 weeks as adjuvant therapy in stage II and III colon cancer: results of a randomized trial. J Clin Oncol. 2003;21:2896-903.
90. Twelves C, Wong A, Nowacki MP, Abt M, et al. Capecitabine as adjuvant treatment for stage III colon cancer. N Engl J Med. 2005;352:2696-704.
91. André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, Navarro M, et al; Multicenter International Study of Oxaliplatin/5-Fluorouracil/Leucovorin in the Adjuvant Treatment of Colon Cancer (MOSAIC) Investigators. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. N Engl J Med. 2004;350:2343-51.
92. Saltz LB, Niedzwiecki D, Hollis D, Goldberg RM, et al. Irinotecan fluorouracil plus leucovorin is not superior to fluorouracil plus leucovorin alone as adjuvant treatment for stage III colon cancer: results of CALGB 89803. J Clin Oncol. 2007;25:3456-61.
93. Mamounas E, Wieand S, Wolmark N, Bear HD, et al. Comparative efficacy of adjuvant chemotherapy in patients with Dukes' B versus Dukes' C colon cancer: results from four National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project adjuvant studies (C-01, C-02, C-03, and C-04). J Clin Oncol. 1999;17:1349-55.
94. Krook JE, Moertel CG, Gunderson LL, Wieand HS, et al. Effective surgical adjuvant therapy for high-risk rectal carcinoma. N Engl J Med. 1991;324:709-15.
95. Smalley SR, Benedetti JK, Williamson SK, Robertson JM et al. Phase III trial of fluorouracil-based chemotherapy regimens plus radiotherapy in postoperative adjuvant rectal cancer: GI INT 0144. J Clin Oncol. 2006;24:3542-7.

96. Nordic Gastrointestinal Tumor Adjuvant Therapy Group. Expectancy or primary chemotherapy in patients with advanced asymptomatic colorectal cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol.* 1992;10:904-11.
97. Ackland SP, Jones M, Tu D, Simes J, Yuen J, et al. A meta-analysis of two randomised trials of early chemotherapy in asymptomatic metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2005;93:1236-43.
98. Lal R, Dickson J, Cunningham D, Chau I et al. A randomized trial comparing defined-duration with continuous irinotecan until disease progression in fluoropyrimidine and thymidylate synthase inhibitor-resistant advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2004;22:3023-31.
99. Labianca R, Sobrero A, Isa L, Cortesi E, et al; Italian Group for the Study of Gastrointestinal Cancer-GISCAD. Intermittent versus continuous chemotherapy in advanced colorectal cancer: a randomised 'GISCAD' trial. *Ann Oncol.* 2011 ;22:1236-42.
100. Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. Meta-analysis Group In Cancer. *J Clin Oncol.* 1998;16:301-8.
101. Mini E, Trave F, Rustum YM, Bertino JR. Enhancement of the antitumor effects of 5-fluorouracil by folinic acid. *Pharmacol Ther.* 1990;47:1-19.
102. Thirion P, Michiels S, Pignon JP, Buyse M, et al; Meta-Analysis Group in Cancer. Modulation of fluorouracil by leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: an updated meta-analysis. *J Clin Oncol.* 2004;22:3766-75.
103. Poon MA, O'Connell MJ, Moertel CG, Wieand HS, et al. Biochemical modulation of fluorouracil: evidence of significant improvement of survival and quality of life in patients with advanced colorectal carcinoma. *J Clin Oncol.* 1989;7:1407-18.
104. Jäger E, Heike M, Bernhard H, Klein O, et al. Weekly high-dose leucovorin versus low-dose leucovorin combined with fluorouracil in advanced colorectal cancer: results of a randomized multicenter trial. Study Group for Palliative Treatment of Metastatic Colorectal Cancer Study Protocol 1. *J Clin Oncol.* 1996;14:2274-9.
105. De Gramont A, Bosset JF, Milan C, Rougier P, et al. Randomized trial comparing monthly low-dose leucovorin and fluorouracil bolus with bimonthly high-dose leucovorin and fluorouracil bolus plus continuous infusion for advanced colorectal cancer: a French intergroup study. *J Clin Oncol.* 1997;15:808-15.
106. Hoff PM, Ansari R, Batist G, Cox J, et al. Comparison of oral capecitabine versus intravenous fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment in 605 patients with

- metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase III study. *J Clin Oncol*. 2001;19:2282-92.
107. Köhne CH, van Cutsem E, Wils J, Bokemeyer C, et al; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Gastrointestinal Group. Phase III study of weekly high-dose infusional fluorouracil plus folinic acid with or without irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer: European Organisation for Research and Treatment of Cancer Gastrointestinal Group Study 40986. *J Clin Oncol*. 2005;23:4856-65.
 108. Fuchs CS, Marshall J, Mitchell E, Wierzbicki R, et al. Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results from the BICC-C Study. *J Clin Oncol*. 2007;25:4779-86.
 109. Tournigand C, André T, Achille E, Lledo G, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J Clin Oncol*. 2004;22:229-37.
 110. Tournigand C, Cervantes A, Figer A, Lledo G, et al. OPTIMOX1: a randomized study of FOLFOX4 or FOLFOX7 with oxaliplatin in a stop-and-go fashion in advanced colorectal cancer--a GERCOR study. *J Clin Oncol*. 2006;24:394-400.
 111. Chibaudel B, Maindrault-Goebel F, Lledo G, Mineur L, et al. Can chemotherapy be discontinued in unresectable metastatic colorectal cancer? The GERCOR OPTIMOX2 Study. *J Clin Oncol*. 2009;27:5727-33.
 112. Hochster HS, Hart LL, Ramanathan RK. Safety and efficacy of oxaliplatin/fluoropyrimidine regimens with or without bevacizumab as first-line treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC): Final analysis of the TREE study. *J Clin Oncol*. 2008;26:3523-9.
 113. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2004;350:2335-42.
 114. Van Cutsem E, Rivera F, Berry S, Kretschmar A, et al; First BEAT investigators. Safety and efficacy of first-line bevacizumab with FOLFOX, XELOX, FOLFIRI and fluoropyrimidines in metastatic colorectal cancer: the BEAT study. *Ann Oncol*. 2009;20:1842-7.
 115. Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ, O'Dwyer PJ, et al; Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal

- cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol*. 2007;25:1539-44.
116. Scappaticci FA, Fehrenbacher L, Cartwright T, Hainsworth JD, et al. Surgical wound healing complications in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab. *J Surg Oncol*. 2005;91:173-80.
 117. Van Cutsem E, Sobrero AF, Siena S. Phase III CORRECT trial of regorafenib in metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol* 30, 2012 (suppl; abstract 3502). Abstract available online at http://www.asco.org/ASCOv2/Meetings/Abstracts&vmvview=abst_detail_view&confID=114&abstractID=94460 (Accessed on June 19, 2012).
 118. Van Cutsem E, Tabernero J, Lakomy R. Intravenous aflibercept versus placebo in combination with irinotecan/5-FU (FOLFIRI) for second-line treatment of metastatic colorectal cancer (MCRC): results of a multinational Phase III trial (EFC10262-VELOUR) (ESMO abstract O-0024). *Ann Oncol* 2011; 22(suppl).
 119. Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, Hamilton SR, et al. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy. *J Clin Oncol*. 2009;27:2091-6.
 120. Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS, Zalcberg JR, et al. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2007;357:2040-9
 121. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2004;351:337-45.
 122. Sobrero AF, Maurel J, Fehrenbacher L, Scheithauer W, et al, 3rd. EPIC: phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26):2311-9.
 123. Folprecht G, Lutz MP, Schöffski P, Seufferlein T, et al. Cetuximab and irinotecan/5-fluorouracil/folinic acid is a safe combination for the first-line treatment of patients with epidermal growth factor receptor-expressing metastatic colorectal carcinoma. *Ann Oncol*. 2006;17:450-6.
 124. Maughan TS, Adams RA, Smith CG, Meade AM, et al; MRC COIN Trial Investigators. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet*. 2011;377:2103-14.

125. Van Cutsem E, Humblet Y, Gelderblom H. Cetuximab dose-escalation study in patients with metastatic colorectal cancer with no or slight skin reactions on cetuximab standard dose treatment (EVEREST): pharmacokinetics and efficacy data of a randomized study (abstract). Data presented at the 4th annual ASCO Gastrointestinal Cancers Symposium, Orlando, FL, January 20, 2007. Abstract available online at www.asco.org/portal/site/ASCO/menuitem.34d60f5624ba07fd506fe310ee37a01d/vgnnextoid=76f8201eb61a7010VgnVCM100000ed730ad1RCRD&vmview=abst_detail_view&confID=45&abstractID=10373).
126. Schrag D, Chung KY, Flombaum C, Saltz L. Cetuximab therapy and symptomatic hypomagnesemia. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:1221-4
127. Van Cutsem E, Peeters M, Siena S, Humblet Y, et al. . Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25:1658-64.
128. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol.* 2010;28:4697-705.
129. Berlin J, Posey J, Tchekmedyian S, Hu E, Chan D, et al. Panitumumab with irinotecan/leucovorin/5-fluorouracil for first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2007;6:427-32.
130. Townsley CA, Major P, Siu LL, Dancey J, et al. Phase II study of erlotinib (OSI-774) in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2006;94:1136-43.
131. Meyerhardt JA, Zhu AX, Enzinger PC, Ryan DP, et al. Phase II study of capecitabine, oxaliplatin, and erlotinib in previously treated patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24:1892-7.
132. Kuo T, Cho CD, Halsey J, Wakelee HA, et al. Phase II study of gefitinib, fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin therapy in previously treated patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:5613-9.
133. Baskın Y, Çalıbaşı G. Temel Onkolojide Kullanılan Araştırma Yöntemleri” Laboratuvar Eğitim, El Kitabı . Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları No:1- 2011- İzmir.

134. Çalıbaşı Gizem. “Gastrointestinal stromal tümörlerde kit mutasyonlarının klinik önemi” Dokuz Eylül üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji Yüksek Lisans tezi. 2011.İzmir
135. Yasemin Baskın, Gizem Çalıbaşı, Emre Canda, Sülen Sarıoğlu, ve ark. Kolorektal Kanserlerde KRAS Geni Mutasyonlarının Saptanmasında Mikroarray Yönteminin Kullanımı. Poster Bildirisi. Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği 6.Ulusal Kongresi 22-25 Eylül 2010, İzmir.
136. Modest DP, Stintzing S, Laubender RP, Neumann J, et al. Clinical characterization of patients with metastatic colorectal cancer depending on the KRAS status. *Anticancer Drugs*. 2011;22:913-8.
137. Zlobec I, Bihl MP, Schwarb H, Terracciano L, Lugli A. Clinicopathological and protein characterization of BRAF- and K-RAS-mutated colorectal cancer and implications for prognosis. *Int J Cancer*. 2010;127:367-80
138. Slattery ML, Anderson K, Curtin K, Ma K, Schaffer D, et al. Lifestyle factors and K-ras mutations in colon cancer tumors. *Mutat Res*. 2001;483:73-81
139. Yokota T, Ura T, Shibata N, Takahari D, et al. BRAF mutation is a powerful prognostic factor in advanced and recurrent colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2011;104:856-62.
140. Potter JD, Slattery ML, Bostick RM, Gapstur SM. Colon cancer: a review of the epidemiology. *Epidemiol Rev*. 1993;15:499-545.
141. Caan BJ, Coates AO, Slattery ML, Potter JD, Quesenberry et al. Body size and the risk of colon cancer in a large case-control study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998;22:178-84.
142. Riely GJ, Marks J, Pao W. KRAS mutations in non-small cell lung cancer. *Proc Am Thorac Soc*. 2009;6:201-5.
143. Wark PA, Van der Kuil W, Ploemacher J, Van Muijen GN, et al. Diet, lifestyle and risk of K-ras mutation-positive and -negative colorectal adenomas. *Int J Cancer*. 2006;119:398-405.
144. Samowitz WS, Albertsen H, Sweeney C, Herrick J, et al. Association of smoking, CpG island methylator phenotype, and V600E BRAF mutations in colon cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2006 ;98:1731-8.
145. Hutchins G, Southward K, Handley K, Magill L, et al. Value of mismatch repair, KRAS, and BRAF mutations in predicting recurrence and benefits from chemotherapy in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29:1261-70.

146. Kim IJ, Kang HC, Jang SG, Kim K, et al. Oligonucleotide microarray analysis of distinct gene expression patterns in colorectal cancer tissues harboring BRAF and K-ras mutations. *Carcinogenesis*. 2006;27:392-404.
147. Velho S, Moutinho C, Cirnes L, Albuquerque C, et al. BRAF, KRAS and PIK3CA mutations in colorectal serrated polyps and cancer: primary or secondary genetic events in colorectal carcinogenesis? *BMC Cancer*. 2008;8:255-9.
148. Kim YH, Kakar S, Cun L, Deng G. Distinct CpG island methylation profiles and BRAF mutation status in serrated and adenomatous colorectal polyps. *Int J Cancer*. 2008;123:2587-93.
149. Fariña-Sarasqueta A, van Lijnschoten G, Moerland E, Creemers GJ, et al. The BRAF V600E mutation is an independent prognostic factor for survival in stage II and stage III colon cancer patients. *Ann Oncol*. 2010;21:2396-402.
150. Tie J, Lipton L, Desai J, Gibbs P, et al. KRAS mutation is associated with lung metastasis in patients with curatively resected colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2011;17:1122-30.
151. Bazan V, Migliavacca M, Zanna I, Tubiolo C, et al. Specific codon 13 K-ras mutations are predictive of clinical outcome in colorectal cancer patients, whereas codon 12 K-ras mutations are associated with mucinous histotype. *Ann Oncol*. 2002 ;13:1438-46.
152. Lièvre A, Bachet JB, Le Corre D, Boige V, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res*. 2006 ;66:3992-5.
153. De Roock W, Jonker DJ, Di Nicolantonio F, Sartore-Bianchi A, et al. Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *JAMA*. 2010;304:1812-20.
154. Richman SD, Seymour MT, Chambers P, Elliott F, et al. KRAS and BRAF mutations in advanced colorectal cancer are associated with poor prognosis but do not preclude benefit from oxaliplatin or irinotecan: results from the MRC FOCUS trial. *J Clin Oncol*. 2009;27:5931-7
155. Ince WL, Jubb AM, Holden SN, Holmgren EB, et al. Association of k-ras, b-raf, and p53 status with the treatment effect of bevacizumab. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97:981-9.
156. Ikeda N, Nakajima Y, Sho M, Adachi M, et al. The association of K-ras gene mutation and vascular endothelial growth factor gene expression in pancreatic carcinoma. *Cancer*. 2001 ;92:488-99.

157. González-Aguilera JJ, Oliart S, Azcoita MM, Fernández-Peralta AM. Simultaneous mutations in K-ras and TP53 are indicative of poor prognosis in sporadic colorectal cancer. *Am J Clin Oncol*. 2004;27:39-45.
158. Andersen SN, Løvig T, Breivik J, Lund E, et al. K-ras mutations and prognosis in large-bowel carcinomas. *Scand J Gastroenterol*. 1997;32:62-9.
159. Alberts SR, Sargent DJ, Nair S, Mahoney MR, et al. Effect of oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or without cetuximab on survival among patients with resected stage III colon cancer: a randomized trial. *JAMA*. 2012;307:1383-93.
160. D- Qiu LX, Mao C, Zhang J, Zhu XD, et al. Predictive and prognostic value of KRAS mutations in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab: a meta-analysis of 22 studies. *Eur J Cancer*. 2010;46:2781-7.
161. Linardou H, Dahabreh IJ, Kanakloupiti D, Siannis F, et al. Assessment of somatic k-RAS mutations as a mechanism associated with resistance to EGFR-targeted agents: a systematic review and meta-analysis of studies in advanced non-small-cell lung cancer and metastatic colorectal cancer. *Lancet Oncol*. 2008 ;9:962-72.
162. Bokemeyer C, Cutsem EV, Rougier P, Ciardiello F, et al. Addition of cetuximab to chemotherapy as first-line treatment for KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: Pooled analysis of the CRYSTAL and OPUS randomised clinical trials. *Eur J Cancer*. 2012;48:1466-75.