

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KOLANJİOKARSİNOMALI HASTALARDA ERCP İLE ELDE
EDİLEN SAFRA SIVISINDA P 53 GEN MUTASYONU
SAPTAMAK TANI İÇİN KULLANILABİLİR Mİ ?**

Dr. Arzu DENLER KILIÇ

**İÇ HASTALIKLARI BİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Muhammed Cem KOÇKAR**

ISPARTA – 2012

TEŞEKKÜR

Gastroenteroloji uzmanlık eğitimi süresince yetişmemde büyük emeği olan ve her zaman olduğu gibi tez çalışmalarım da katkı ve desteğini esirgemeyen, eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tez danışmanım Prof. Dr. M. Cem KOÇKAR'a ve bu süre içinde pek çok şeyi paylaştığımız sevgili çalışma arkadaşlarıma, endoskopi ünitesinin değerli hemşire ve personeline teşekkürü bir borç bilirim.

SDÜ BAP 2750-TU-11 nolu proje kapsamında mali destek veren Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim ile yaşam kaynağım oğluma derin sevgilerimi sunarım.

Dr. Arzu DENLER KILIÇ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİL DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Safra Yolları Anatomisi.....	2
2.1.1. Safra Yolları.....	2
2.2. Kolanjiokarsinomlar	3
2.2.1. Etiyoloji	4
2.2.2. Anatomi ve Tümör Sınıflaması	5
2.2.3. Histoloji ve İmmünohistokimya	7
2.2.3.1. Patoloji	8
2.2.3.2. İmmünohistokimya	8
2.2.4. Tümör Markerları	9
2.2.4.1. CEA (Karsinoembriyonik Antijen)	9
2.2.4.2. CA 19-9 (Kanser Antijen 19-9).....	9
2.2.4.3. Kombine CEA ve CA 19-9	10
2.2.5. Radyolojik Değerlendirme.....	10
2.2.5.1. TUSG	10
2.2.5.2. Kompüterize Tomografi (CT)	11
2.2.5.3. MRCP.....	11
2.2.5.4. Kolanjiografi	12
2.2.5.5. Endoskopik Ultrasonografi (EUS)	13
2.2.5.6. Pozitron Emisyon Tomografisi (PET)	13
2.2.5.7. Preoperatif Doku Tanısı	13
2.2.5.8. Laparoskopi.....	13
3. MATERYAL METOD	14
3.2. Metod.....	16
3.2.1. Endoskopik İnceleme.....	16

3.2.2. Moleküler İnceleme	16
4. BULGULAR	18
4.1. Kontrol Grubu	18
4.2. Malign Grup	18
4.3. FM Bulguları	20
4.4. Laboratuar Bulguları	20
4.5. ERCP Bulguları	21
4.6. Manyetik Rezonans Kolanjo Pankreatikogram Bulguları.....	23
4.7. Bilgisayarlı Tomografi Bulguları	24
4.8. Endoskopik Ultrasonografi Bulguları	24
4.9. Hastaların Prognozu	27
4.10. Safra Sıvısının Moleküler İncelenmesi	27
5. TARTIŞMA	38
SONUÇ.....	43
ÖZET.....	44
SUMMARY	45
KAYNAKLAR	46

KISALTMALAR DİZİNİ

AFP	: Alfa fetö protein
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CA	: Karsinom
CEA	: Karsino embriyöjenik antijen
ERCP	: Endoskopik retrograd kolanjiopankreatikografi
EUS	: Endoskopik ultrasonografi
İHKK	: İtrahepatik Kolanjiokarsinom
KK	: Kolanjiokarsinom
MRCP	: Manyetik rezonans kolanjiopankreatikografi
PET	: Pozitron emisyon tomografisi
PSK	: Primer sklerozan kolanjit
USG	: Ultrasonografi

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kolanjikarsinom etiyojisinde rol oynadığı düşünölen faktörler	5
Tablo 2. ERCP den dışlama kriterleri	16
Tablo 3. Bening grubu oluşturan hastalar ve sayıları	18
Tablo 4. Maling grubu oluşturan hastalar ve sayıları	18
Tablo 5. Malign grubu oluşturan hastaların Evreleri, Tümör lokalizasyonu ve Ortalama yaşam süreleri.....	19
Tablo 6. Hastaların başvuru yakınmaları.....	20
Tablo 7. Hasta ve kontrol gruplarının labaratuvar değerleri	21
Tablo 8. Hasta ve Kontrol gruplarının ortalama tümör merker seviyeleri	21
Tablo 9. Malign gruptaki hastaların görüntöleme sonuçları	25
Tablo 10. Hasta ve kontrol grubunda mutasyon yüzdeleri.....	30
Tablo 11. Malign grupta mutasyonlara göre cinsiyet dağılımı	30
Tablo 12. Bening grupta mutasyonlara göre cinsiyet dağılımı	31
Tablo 13. Mutasyonlara göre yaş ortalaması.....	32
Tablo 14. Malign grupta mutasyonlara göre CEA düzeyleri	32
Tablo 15. Malign grupta mutasyonlara göre CA19 düzeyleri.....	33
Tablo 16. Malign grupta mutasyonlara göre tümör lokalizasyonları	33
Tablo 17. Malign grupta mutasyonlara göre tümör boyutları	34
Tablo 18. Malign grupta mutasyonlara göre damar invazyonları	35
Tablo 19. Malign grupta mutasyonlara göre lenf nodu tutulumu.....	36
Tablo 20. Malign grupta mutasyonlara göre tümör evrelemesi	37

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Safra kanalı kanserlerinin sınıflaması.....	6
Şekil 2. Perihiler kolanjikarsinomların Bismuth-Corlette sınıflaması. Siyah alanlar tümörü, beyaz alanlar normal safra kanallarını göstermektedir.	7

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Proksimal kolanjiokarsinomalı olgunun ERCP görünümü. Proksimalde opak madde geçişine engel olan darlık mevcut.....	22
Resim 2. Distal kolanjiokarsinomlu olgunun ERCP görünümü. Koledoğun distalde kesintiye uğradığı gözükmemekte	23

1. GİRİŞ

Kolanjiokarsinoma (KK) safra yolları epitelinden köken alan, agresif bir kanser türüdür. Hepatobiliyer malignensilerin % 10-15'lik bir bölümünü oluşturmaktadır. Son yıllarda insidansı giderek artmakta olduğuna ilişkin raporlar yayınlanmaktadır (1). KK, topografik olarak intrahepatik ve ekstrahepatik olarak sınıflandırılmaktadır. Ekstrahepatik Kolanjiokarsinomlar (EHKK) ise hiler, orta ve distal KK olarak alt gruplara ayrılmaktadır. En çok görülen biçimi hiler tümörler ('*Klatskin*' Tümörü) olup bu tümörlerin sınıflandırılması için "*Bismuth-Corlette*" Sınıflaması kullanılmaktadır (2).

Histolojik olarak KK'nın çoğu (> % 95) adenokarsinom'dur. KK patolojik olarak ise sklerozan (periduktal infiltrasyon), nodüler (kitle oluşturmuş) ve papiller (intraduktal büyüyen) olmak üzere 3 grupta değerlendirilir (3).

Günümüzde yeni tanısal tekniklerin ortaya çıkmasına rağmen KK tanısını koymak ve cerrahi öncesi değerlendirmesini yapmak oldukça güçtür. Diğer kanser ve metastazlarından (Örn: pankreas kanseri) ve iyi huylu safra kanalı darlıklarından ayırt edilmesi çok önemlidir (2, 4).

KK tanısı ve cerrahi öncesi değerlendirilmesi için çeşitli görüntüleme yöntemleri kullanılmaktadır. Transabdominal Ultrasonografi (USG), Bilgisayarlı Tomografi (BT), Endoskopik Ultrasonografi (EUS), Magnetik Rezonans Koloanjiopankreatikografi (MRCP) ve Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatikografi (ERCP) değerlendirme için en çok tercih edilen yöntemlerdir. Bu yöntemlerin herbirinin değerlendirmedeki doğruluk oranları değişmektedir. Bu görüntüleme yöntemleri aracılığıyla yapılan girişimsel işlemler ile tanıya katkıda bulunacak biyopsi ve sitolojik materyaller alınabilmektedir. ERCP sırasında uygulanan fırça sitoloji yöntemiyle de KK tanısına katkıda bulunmakla birlikte bu yöntemin duyarlılığı % 33-80 arasında değişmektedir. Doku örneklemesindeki duyarlılık, deneyimli merkezlerce EUS iğne biyopsisi ve endobiliyer forseps kullanımı ile artırılabilir. Buna ilaveten yeni geliştirilen *peroral* kolonjioskop ile EHKK tanısını % 100 doğrulukla konabildiğini gösteren yayınlar da bulunmaktadır(4).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Safra Yolları Anatomisi

2.1.1. Safra Yolları

İntrahepatik ve ekstrahepatik olmak üzere iki bölüme ayrılır.

İntrahepatik safra yolları, cidarsız safra kapillerlerinden başlar. Bu kapillerler, içine hücre membranı tarafından safra sıvısı salgılanan karaciğer hücrelerinin arasında bulunur. Kapillerler periferde kübik epitel ile döşeli borucuklar haline gelirler. Bunlar birleşerek terminal safra yollarını oluştururlar. Karaciğer içerisinde ilerleyen bu safra yolları birbirleri ile birleşirler, sonunda kanalların sayısı gittikçe azalır ve çapları büyür.

Karaciğerin sağ ve sol loblarından, sağ ve sol hepatik kanallar meydana gelmiş olur ve bunlar porta hepatiste ana hepatik kanalı oluşturmak üzere birleşirler. Buna safra kesesinden gelen sistik kanalın katılması ile koledok meydana gelir (1).

Ekstrahepatik safra yollarının başlangıç bölümünü, ana hepatik kanal oluşturur. Ana hepatik kanal omentum minusun ligamentum hepatoduodenale parçasının sağ kenarında, arteria hepaticanın ve vena portanın sağında ve her iki damarın ventralinde bulunur. Uzunluğu 2-4 cm, çapı 4 mm kadardır. Omentum minus içinde dar bir açı yaparak duktus sistikus ile birleşir ve koledoku oluşturur (1,2).

Koledok, omentum minus katları arasında, portal ven önünde ve hepatik arter sağında ilerler. Duodenum 1. kısmı arkasından, pankreasın baş kısmının posteriorundaki oluğun içinden geçer ve duodenumun 2. kısmına açılır. Kanal, duodenum posteromedial duvarında oblik seyreder ve bu bölümün orta kısmında sıklıkla ana pankreas kanalı ile birleşir. Böylece “ampulla vateri” oluşur. Ampulla mukoza membranını içeri doğru iterek, bir tümsek yapar ve buna “duodenal papilla” denir. Bireylerin yaklaşık % 30’unda safra ve pankreas kanalları duodenuma ayrı ayrı açılırlar. Koledok uzunluğu 6-8 cm, çapı 4-5 mm.dir (1).

Koledokun komşuluk bakımından yukarıdan aşağıya dört parçası vardır:

1-Supraduodenal bölüm: Lig.hepatoduodenale parçası içindedir.

2-Retroduodenal bölüm: Duodenum birinci kısmı arkasında bulunan bu parçanın posteriorunda V.cava inferior bulunur. Uzunluğu 1.5-2 cm.dir.

3-Retroopankreatik bölüm: Pankreas baş kısmının arkasında bulunan bu parçanın posteriorunda V. cava inferior ve sağ böbrek damarları, solunda V. porta bulunur. Uzunluğu 2.5-3.5 cm.dir.

4-Intramural bölüm: Duodenum 2. kısmı duvarı içinde bulunan bu parça papilla duodeni major'a ya duktus pankreatikus ile birleşerek ya da birleşmeden ayrı olarak açılır. Bu parçanın uzunluğu 1-1.5 cm.dir. Bu son parçanın papilla duodeni içindeki bölümü genişlemiştir ve ampulla Vateri adını alır. Bu ampullanın çevresinde "Oddi sfinkteri" adı verilen düz kas lifleri vardır. Bu kas lifleri vasıtası ile koledok kapatılarak safranın, safra kesesinde birikerek depo edilmesi ve gerekince duodenuma akıtılması sağlanmış olur (3).

2.2. Kolanjiokarsinomlar

Kolanjiokarsinomlar intrahepatik ve ekstrahepatik safra kanallarının epitelyum hücrelerinden kaynaklanan kanserlerdir (3,4). Hepatobilier sistem tümörlerinin % 15 inin oluşturmaktadırlar.

Çoğu prezente olduğunda lokal olarak ilerlemiş lezyonlardır. Hatalığin tanısını koymada yeni tanısal tetkiklerin kullanılmaya başlamasına rağmen, halen tanıda zorluklar yaşanmaktadır. En önemli sorun hastalığının evresinin tespit edilmesi ve bening bilier darlıklar, pankreas kanserinden ayırd edilmesidir.

KK insidansı yaşla artar, 65 yaşında pik yapar. Kadın ve erkekteki sıklığı benzerdir. ABD'de KK insidansı 1/100.000'dir, bununla beraber insidansı giderek artmaktadır. Tüm karaciğer ve safra yolları kanserlerinin %15-25'ni oluşturur (4,5). Hastalar tipik olarak 50-70 yaşlarındadır. Primer sklerozan kolanjit (PSK) ve koledok kisti olanlar 2 dekat daha erken prezente olur. PSK'nın erkeklerde daha yüksek insidansından ötürü hafif bir erkek hakimiyeti vardır.

2.2.1. Etyoloji

KKA sporadik olarak nadir görülür, genelde altta yatan patolojilere sahiptir. KKA için risk faktörlerinin bir kısmı saptanmıştır (5).

Primer sklerozan kolanjit (PSC)'li hastaların yaklaşık %6-11'inde KKA gelişir. Bununla birlikte PSC'li hastaların otopsi örneklerinde %40 civarında KKA saptanmıştır. PSC'li hastaların ekstrahepatik safra kanal mukozası sıklıkla KKA gelişmesine yatkınlık sağlayan displastik değişim gösterir (5,6,7). KKA PSC tanısı olan hastalarda daha erken görülme eğilimindedir (3).

PSK'lı hastalarda kolanjiokarsinom gelişme nedeni anlaşılamamıştır. Sigara, alkol, genetik polimorfizm risk faktörleri olarak ileri sürülmüştür. Kronik ülseratif kolitli (ÜC) hastalarında KKA gelişme riski genel popülasyondan 10 (9-21) kat daha fazladır (4).

Safra yolunda kistik anomalisi olan hastaların yaklaşık %2.5-28'de KKA veya safra kesesi kanseri gelişebileceği bildirilmiştir. Kistik anomali 20 yaşından önce tanı konularak eksize edilirse malign dejenerasyon riski azalır (5).

Caroli sendromu, konjenital hepatik fibrozis ve koledok kistleri gibi konjenital anomalilerde malign değişim riski yaklaşık %15'dir. Ortalama tanı yaşı 34'tür. Koledok kistleri safra kanallarının multibl kistik dilatasyonu, Caroli hastalığı ise intrahepatik safra kanallarının multibl kistik dilatasyonu ile karakterize koledok kist varyantıdır. Tedavi edilmemiş kistli hastalarda kolanjiokarsinom insidansı %28'dir.

Koledokal kisti olan hastalarda malign transformasyonu etkileyen diğer predispozan faktörler kronik infeksiyon, safra stazı ve taş oluşumu olarak sıranabilir (6).

İntrahepatik safra taşları artmış KKA riskiyle ilişkilidir. Safra taşları safra kanal fibrozisini uyularak, staz ve infeksiyona yol açarak KKA gelişme riskini artırmaktadır. Safra yollarında taş olanların %5-10'unda KKA gelişir. Safra yollarındaki taşlar alındıktan yıllar sonra bile KKA gelişebilir (4).

Lynch sendromu II ve biliyer papillomatozis: Biliyer papillomatozis safra kanallarında multibl adenomatoz polipler, tekrarlayan karın ağrısı, sarılık ve akut kolanjitte karakterizedir

Non viral kronik karaciğer hastalığı: İntrahepatik kolanjiokarsinom ile ilişkili gozukmektedir.

Lynch sendromu II ve biliyer papillomatozis: Biliyer papillomatozis safra kanallarında multibl adenomatoz polipler, tekrarlayan karın ağrısı, sarılık ve akut kolanjitte karakterizedir.

Diyabetes Mellitus (DM): Vaka kontrollu çalışmalarda normal popülasyondan 2 kat daha yüksek saptanmış. İntrahepatik kolanjiokarsinom için risk faktörünün DM'nin kendisiyle mi yoksa ilişkili olduğu obezite ve hiperlipidemi gibi komplikasyonlar olup olmadığı belli değildir.

Obesite: Vaka kontrollu çalışmalarda ekstrahepatik kolanjiokarsinom ile ilişkili bulunmuştur. **HIV enfeksiyonu:** İntrahepatik kolanjiokarsinom için bağımsız risk faktörüdür.

Tablo 1. Kolanjikarsinom etiyojisinde rol oynadığı düşünülen faktörler

Etiyolojik Faktörler	
Primer sklerozan kolanjit	Safra yolu adenoması ve biliyer papillomatozis
Ülseratif kolit	Cerrahi biliyer-enterik drenaj prosedürleri
65 yaş üzeri	KC parazitik enfestasyonları
Koledokal kist	Hepatit ve siroz
Hepatolitiyazis	Kimyasal ajanlar (thorotrast, radionuclides,
Karoli hastalığı	vinylklorid, nitrozaminler.)
Kronik intraduktal taş	

2.2.2. Anatomi ve Tümör Sınıflaması

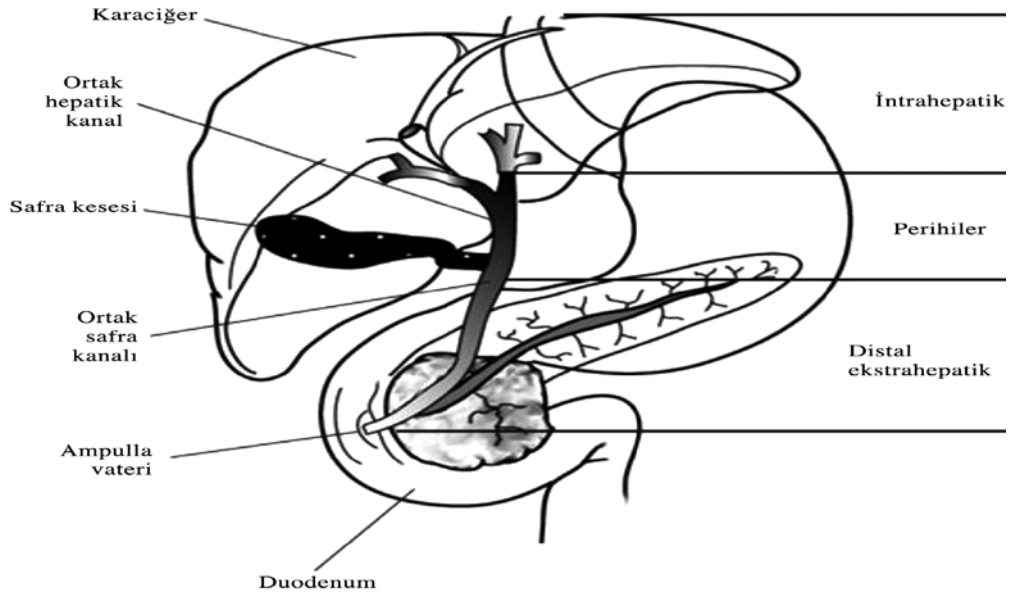
Farklı klinik prezentasyon ve tedavi yöntemlerinden dolayı kolanjiokarsinomlar lokalizasyonlarına göre 3 farklı grupta incelenir (Resim 1).

1) İntrahepatik kolanjiokarsinomlar; Küçük intrahepatik kanallardan (periferik kolanjiokarsinom) ya da sol ve sağ hepatik kanalların birleşme yerinin hemen proksimalindeki büyük intrahepatik kanallardan kaynaklanır. Dünyada intrahepatik kolanjiokarsinom (İHKK) görülme sıklığı lokal jeografik risk faktörleri

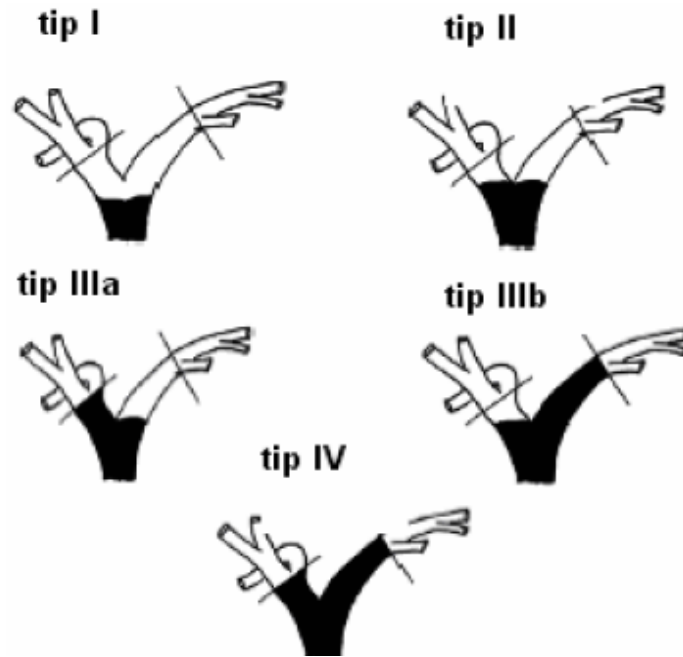
ve genetik farklılıklar nedeniyle değişkendir. Tüm primer hepatik tümörlerin % 10-15 ini oluşturmaktadır.

2) Perihiler kolanjiokarsinomlar; Tüm kolanjiokarsinomaların % 60-80'inden sorumludur. Ortak hepatik kanal bifurkasyonunu tutan tümörler intrahepatik ya da ekstrahepatik olup olmadığına bakılmaksızın Klatskin tümörleri olarak adlandırılır (6). Bu adlandırma ilk kez 1965 yılında Klatskin tarafından kullanılmıştır. Daha sonra *Bismuth ve Corlette* bir sınıflaması kullanılmay başlamıştır.

3) Distal kolanjiokarsinomlar; Pankreas içinde kalan safra yolundan kaynaklanan tümörler ise distal KK olarak adlandırılır. Distal kolanjiokarsinom tüm kolanjiokarsinomların % 10-30'undan sorumludur .



şekil 1. Safra kanalı kanserlerinin sınıflaması



Şekil 2. Perihiler kolanjikarsinomların Bismuth-Corlette sınıflaması (10). Siyah alanlar tümörü, beyaz alanlar normal safra kanallarını göstermektedir.

Bismuth-Corlette sınıflaması

Tip 1: Sağ ve sol hepatik kanalların birleşim yerinin altındaki tümörler

Tip 2: Sağ ve sol hepatik kanalların birleşim yerindeki tümörler

Tip 3: Ortak safra kanalını ve sağ ya da sol hepatik kanalı tıkayan tümörler (sırayla 3a ve 3b)

Tip 4: Multisentrik ya da bileşkeyi ve sağ ve sol hepatik kanalların herikisini de tutan tümörler

2.2.3. Histoloji ve İmmünohistokimya

Kolanjiokarsinomlar anatomik lokalizasyonlarına göre sınıflandırılır. %75'i safra kanalının proksimal üçte birlik kısmında, bunların üçte ikisi de ortak safra kanalının bifurkasyonunu (Klatskin tumor) tutar. İntrahepatik non-perihiler tumorler (periferik kolanjiokarsinom) kolanjiokarsinomun %10'dan azından sorumludur. Tumorlerin %7'si tanı esnasında multisentriktir.

2.2.3.1. Patoloji

Kolanjiokarsinomların %90'dan fazlası adenokarsinom, kalanların da çoğu squamoz hücreli karsinomdur. Orta ve kötü diferansiye olarak da derecelendirilir. Adenokarsinomlar ayrıca noduler, sklerozan ve papiller olmak üzere üç tipe ayrılır.

1. Sklerozan: Yoğun desmoplastik reaksiyon ile karakterizedir. Yoğun fibrozis biyopsi ve sitoloji ile preoperatif tanıyı zorlaştırır. Safra kanal duvarını erken dönemde invaze etmeye eğilimlidir ve sonuç olarak düşük rezektabilite ve kür oranları ile ilişkilidir. İntraduktal yayılım kolanjiografide PSK'yı taklit edebilir. Ne yazık ki kolanjiokarsinomların çoğu bu tiptir. Bir çalışmada 194 perihiler tumorun % 94'u, 80 distal tumorun 79'u ve 9 intrahepatik kolanjiokarsinomun tümü sklerotik adenokarsinom olarak saptanmıştır (10).

2. Nodüler: Son derece invaziv ve çoğu tanı esnasında ilerlemiş tumorlerdir. Rezektabilite ve kür oranları çok düşüktür.

3. Papiller: Kolanjiokarsinomun en nadir formudur. Hastalığın seyrinde erken dönemde safra tıkanıklığına neden olan ortak safra kanalında hacimli küteller olarak presente olur. Bu nedenle rezektabilite ve kür oranları en yüksektir.

Her üç tipin ortak özellikleri yavaş büyüme, yüksek oranda lokal invazyon, musin üretimi ve sinirlere yayılımdır. Uzak metastazlar ise seyrekdir. İntrahepatik kolanjiokarsinomların çoğu desmoplastik reaksiyonlu adenokarsinomdur. Büyük intrahepatik safra kanallarında papiller büyüme ve periduktal infiltrasyon tipikken küçük kanallardan kaynaklanan tümörler hepatosellüler karsinom benzeri bir görünüme sahiptir. İnvaziv kanserlere ek olarak hepatolithiazis gibi kronik safra hastalık zemininde gelişen intrahepatik kolanjiokarsinom safra epitelyal displazi ve karsinoma insitu gibi prekanseröz lezyonlarla karakterizedir.

2.2.3.2. İmmünohistokimya

Normal ya da malign safra epitel tarafından farklı olarak eksprese edilen protein olmadığından patognomonik histokimyasal test yoktur. Ancak sitokeratin, CEA ve musin ile immunohistokimyasal boyama tanıyı desteklemek için kullanılabilir. Özellikle sitokeratin-2 pozitifliği safra kanal orijini ile ilişkilidir.

2.2.4. Tümör Markerları

Kolanjiokarsinomlu hastaların serum ve safrasında bazı tumor markırlarının saptanması kolanjiokarsinom tanısında spesifik olmadığı halde tanısal değeri olabilir.

2.2.4.1. CEA (Karsinoembriyonik Antijen)

Kolanjiokarsinom tanısında yeterli sensitivite ve spesifitesiye sahip değildir. 44'u kolanjiokarsinomlu 333 primer sklerozan kolanjitli hastanın incelendiği bir seride 5.2 ng/ml üzerindeki serum CEA seviyesi %68 sensitiv (%95 CI %48-84) ve %82 spesifik (%95 CI %74-85) bulunmuştur (11).

2.2.4.2. CA 19-9 (Kanser Antijen 19-9)

180 U/ml seviyesi %67 sensitivite ve %98 spesifiteye sahip bulunmuştur (6). 14'u kolanjiokarsinomlu toplam 218 primer sklerozan kolanjitli hastayı içeren bir çalışmada 129 u/ml serum CA 19-9 seviyesi kolanjiokarsinom tanısında %79 sensitiv, %99 spesifik ve %57 PPD (16), 63.2 u/ml seviyesi %90 sensitiv, %98 spesifik ve % 42.3 PPD sahip bulunmuştur (12).

Primer sklerozan kolanjit olmayan 103 hastalık bir seride kolanjiokarsinom tanısında 100 u/ml'lik serum CA 19-9 seviyesinin sensitivitesi %53 ve gercek negatif oranlar malign olmayan karaciğer hastalığı (n=41) için %76, benign safra kanal strikturleri için (n=26) %92'dir (13).

Unrezektabl kolanjiokarsinom hastalar rezektabl kolanjiokarsinom ile karşılaştırıldığında önemli oranda daha büyük ortalama konsantrasyona sahip bulunmuştur. Benign ve malign safra kanal hastalığını en iyi ayırdeden optimal cutoff değeri kolanjit (ateş, lokositoz ve sağ ust kadran ağrısı) ve kolestaz (serum bilirubin >3 mg/dl) varlığından etkilenir. Kolanjit ve kolestazı olmayan hastalarda CA 19-9 >37 U/ml cutoff değeri malignite için %73 sensitivite ve %63 spesifiteye sahip bulunmuştur (14).

2.2.4.3. Kombine CEA ve CA 19-9

CA 19-9 ve CEA kombine index ($CA\ 19-9 + (CEA \times 40)$) kullanımı radyografik olarak okult hastalıklı 11 hastanın 6'sını içeren, kolanjiokarsinomlu 15 hastanın 10'unu doğru olarak saptamış, yalancı pozitiflik görülmemiştir (15).

Bununla beraber PSK'li 72 hastalık daha yeni bir çalışmada kolanjiokarsinom saptanmasında sadece CA 19-9 kullanımının (cutoff değeri ≥ 37 U/ml), sensitivitesi %63, kombine CA 19-9/CEA index kullanımının sensitivitesi sadece %33 bulunmuştur (16).

PSK'lı hastalara odaklanan ve yukarıda bahsedilen seride 45 hastaya (8'inde kolanjiokarsinom mevcut) her iki test yapılmış. 5.2 ng/ml üzerindeki CEA ve 180 U/ml üzerindeki CA 19-9 cutoff değerlerinin sensitivitesi %100 (%95 CI %65-100) ve spesifitesi %78 (%95 CI %63-90) bulunmuştur.

2.2.5. Radyolojik Değerlendirme

Radyografik çalışmalar sarılığın nedeninin saptanmasında (safra kanal striktürlerinin malign ya da benign olup olmadığı), kolanjiokarsinom şüpheli hastalarda tedavi planlanmasında temeldir.

Sarılıklı hastaların pek çoğunda safra kanal dilatasyonunu doğrulamak, obstruksiyon yerini lokalize etmek ve safra taşlarını dışlamak için başlangıçta TUSG yapılır. Ardışık değerlendirme sıklığı distal lezyonlarla karşılaştırıldığında hiler lezyonlarda farklıdır. Hiler lezyonlar için (normal çaplı ekstrahepatik kanallı intrahepatik duktal dilatasyon) ERCP gibi invaziv kolanjiografi kullanımı azalırken MRCP (magnetic retrograde cholangiopancreatography) görüntüleme seçeneği olarak ortaya çıkmaktadır.

2.2.5.1. TUSG

İntrahepatik kolanjiokarsinom TUSG'de kitle lezyonu olarak görülür. Perihiler ve ekstrahepatik kanserler özellikle küçük olduklarında saptanmayabilir, fakat obstruktif karaciğer segmentleri boyunca duktal dilatasyon gibi indirekt bulgular varsa tanıya işaret eder. Taş yokluğunda duktal dilatasyon (normal erişkinlerde >6 mm) obstruktif bir lezyona işaret eder. Proksimal lezyonlar sadece

intrahepatik kanallarda dilatasyona yol acararken distaldeki lezyonlar hem intra hem de ekstrahepatik kanallarda dilatasyona yol acar.

Spesifik TUSG bulguları kolanjiokarsinom tipleri ile ilişkilidir

- Klatskin tümörleri; sıklıkla segmental dilatasyon ve sağ ve sol kanalların birleşmemesi
- Papiller tümörler; polipoid intraluminal küteller
- Noduler kolanjiokarsinomlar; mural kalınlaşma ile ilişkili ayırık duzgun sınırlı küteller olarak görünür. Safra kanalları PSK ve sirozlu kolanjiokarsinomlu hastalarda dilate gorulmeyebilir.

2.2.5.2. Kompüterize Tomografi (CT)

Safra malignitesi şüphesi olan hastalarda sık kullanılır. İntrahepatik tumorler, safra obstruksiyon seviyesi ve karaciğer atrofisinin saptanmasında faydalıdır. İntrahepatik duktal dilatasyonun yeri sıklıkla obstruktif lezyonların lokalizasyonunu destekler.

Kontrakte safra kesesi ile birlikte her iki hepatic lobda duktal dilatasyon ya da sağ ve sol hepatic duktusların duvar kalınlığı olsun olmasın birleşmeme görüntüsü Klatskin tumorunu düşündürür. İntra ve ekstrahepatik kanal dilatasyonu olmaksızın dilate bir kese sistik kanal taşlarını ya da tumorunu destekler. Dilate intra ve ekstrahepatik safra kanallı distandu safra kesesi ortak safra kanalı, ampulla wateri ya da pankreas kanseri için daha tipiktir.

2.2.5.3. MRCP

İntra ve ekstrahepatik safra kanallarının ve pankreas kanalının preoperatif değerlendirilmesinde mukemmeldir. CT üzerinde de avantajlara sahiptir. Karaciğer parankimi ve intrahepatik lezyonların görüntülenmesi yanı sıra bir strikturun proksimalindeki ve distalindeki safra kanallarının ve vasküler yapıların değerlendirilmesine müsaade eden üç boyutlu görüntü sağlar (17).

Kolanjiokarsinom T1 ağırlıklı imajlarda hipotens, T2 ağırlıklı imajlarda hipertens bir lezyon olarak gözüktür. T2 ağırlıklı görüntüler fibrozis alanlarına karşılık gelen santral hipointensite gösterir.

MRCP ve CT proksimal lezyondan kaynaklandığı düşünülen obstruktif sarılıklı hastalarda invaziv kolanjiografinin yerini büyük oranda almıştır. MRCP safra drenajdan önce yapılmalıdır.

2.2.5.4. Kolanjiografi

Hiler kolanjiokarsinom düşünülen hastalarda MRCP ve CT büyük oranda kolanjiografinin yerini almıştır (18).

Şüpheli obstruksiyon seviyesi distaldeyse ya da safra ağacının preoperatif drenajı gerekli ise kolanjiografi hala endike olabilir. Pekçok cerrah hala rezektabilite için MRCP'den ziyade ERCP ya da PTK'daki görüntülere güvenir.

ERCP PSK'lı hastalarda tercih edilir. Çünkü intrahepatik safra ağacının belirgin striktürü perkutan yaklaşımı zorlaştırır. Aksine distal safra ağacının komplet obstruksiyonu varsa daha proksimal safra sistemi görüntülemek için PTK genellikle tercih edilir.

Kolanjiografi safra obstrüksiyon yerini ve büyüklüğünü göstermede önemli olsa da MRCP gibi teknikler daha az invazivdir ve eşit olarak doğruluğu çalışmalarda gösterilmiştir. Gereken durumlarda hem ERCP hem de PTK diagnostik safra örneği ve brush sitoloji örneği elde etmede kullanılabilir. ERCP ya da PTK ile safra örnekleri kolanjiokarsinom olgularının yaklaşık %30'unda pozitif sitoloji ile sonuçlanacaktır. Sitolojik inceleme için kanaldan alınan biyopsi ya da örnek soz konusu lezyondan ise tanı ürünü artar. Ne yazık ki maligniteyi destekleyen klinik ve/veya radyolojik bulguları olan hastalarda endoskopik brush sitoloji kısıtlı sensitivite (%35-69)'ye sahiptir ve malign striktürlere endoskopik biyopsi eklenmesi bu değeri sadece %43-88 artırır. Bu testler pozitifse diagnostik değerlendirmede faydalı olabilir fakat negatif test malign hastalığı dışlayamaz. Tumor markırıyla birlikte brush sitoloji daha iyi diagnostik doğruluk sağlar.

2.2.5.5. Endoskopik Ultrasonografi (EUS)

Distal safra kanal lezyonlarında primer tumorun lokal büyüklüğü ve reyonel lenf nodlarının durumu görüntülenebilir(19).

EUS rehberliğinde İİAB (ince iğne aspirasyon biyopsisi) tumorler ve büyümüş nodlarından yapılabilir. Distal malignitelerin saptanmasında EUS eşliğinde İİAB brushingli ERCP'den daha büyük sensitiviteye sahiptir. Proksimal safra kanal lezyonlarının görüntülenmesi ve evrelenmesinde EUS'un rolü belirsizdir, klinik deneyimler kısıtlıdır.

2.2.5.6. Pozitron Emisyon Tomografisi (PET)

Safra kanal epitelinin yüksek glukoz tutma özelliğinden dolayı kolanjiokarsinom görüntülenebilir (20).

1 cm'den küçük noduler kolanjiokarsinomlar saptanabilir, fakat infiltrate edici tumorler için daha az yararlıdır. Okult metastazların saptanmasında PET'in rolü daha muhtemeldir.

2.2.5.7. Preoperatif Doku Tanısı

Hiler malignite şüpheli hastalarda doku tanısı koymak çeşitli yollarla mümkün olsa da sıklıkla zordur. Cerrahi öncesi doku tanısı koyma gerekliliği klinik duruma bağlıdır. Karakteristik malign hiler safra obstruksiyon bulguları olan hastalarda cerrahi planlanması için kritik değildir ve palyatif tedavi planlanması için gerekli olmayabilir.

2.2.5.8. Laparoskopi

Radyolojik çalışmalarla metastatik hastalığın acık kanıtı olmadıkça gerçek rezektabilite sadece operatif değerlendirme ile belirlenebilir. Laparoskopi unrezekektabl hiler ve distal kolanjiokarsinomlu hastaların çoğunu saptayabilir ve sonuc olarak gereksiz laparotomilerin sayısı azalır. Bununla beraber gerçek rezektabilite çoğu kez komplet abdominal eksplorasyondan sonra belirlenebilir.

3. MATERYAL METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Hasta Grubu Özellikleri

Çalışma, araştırmaya katılan gönüllüler SDÜ Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji kliniğine Kasım 2008- Mayıs 2011 tarihleri arasında karın ağrısı veya sarılık ile başvuran yapılan tetkiklerinde kolestatik karaciğer enzimlerinde yükseklik, bilirubin yüksekliği ile birlikte tanısal amaçlı safra yollarına yönelik yapılmış radyolojik görüntüleme ile kısmi veya total olarak safra akışını engelleyen bir patoloji tespit edilen hastalar alınmıştır.. Hastalar safra yollarını tıkayan patolojiye göre benign ve malign olmak üzere 2 gruba ayrıldı.

- Grup 1; Kontrol grubunu oluşturan hastalar.

25 tane koledokta taşı bulunun olgu, 1 tane kolesistit (Mirizzi sendromu) tanılı olgu, 1 adet safra çamuru sonucu koledokta tıkanması bulunan olgu, 4 tane Primer sklerozan kolanjitli olgu, 6 adet post operatif koledok darlığı tanısı konulmuş olgu, 1 adet oddi fibrozisi ve 1 adet kist hidatik safra yollarına rüptürü sonucu oluşan tıkanma ikterli olgu, alındı. Bu hastaların klinik progresyonarı, ERCP görüntüleri, radyolojik görüntülemeleri (MRCP, BATIN BT, Batın USG, EUS), laparotomik tanıları ve post operatif tanıların herhangi birinde malignite düşündüren bulgu yoktu.

- Grup 2; Kolanjiokarsinomlu olgular.

Bu gruba alınan hastalarda malignite tümörden veya tümör metastazlarından alınan histopatolojik doku tanısı ile birlikte görüntüleme yöntemleri ile safra yollarında tümöral ezyonların görülmesi ile konuldu. Hastalarımızın 37 tanesinin patolojik tanısı vardı. Bunlardan 21 tanesinde intraoperatif alınan doku piyeslerinden tanı konulmuş olup, 8 tanesinde karaciğer metastazlarından alınan perkutan aspirasyon biyopsisi ile tanı konuldu. 1 hastamızda umblikus cildende tümöral lezyon görülmekteydi ve buradan alınan biyopsi ile 1 hastamızda laparoskopik alınan periton metastazından histopatolojik tanı konuldu. Safra yollarına yapılan EUS esnasında alınan İnce iğne aspirasyon biyopsisi ile 4 hastamıza malign sitoloji rapor

edildi. 2 hastamızda ERCP esnasında alınan fırça sitolojisi malin sitoloji olarak rapor edildi. 3 hastamızda histopatlojik tanı yoktu, ancak koledokta kolanjiokarsinom ile uyumlu ERCP ve BT görünümleri mevcuttu.

Tüm hastalara SDÜTF Gastroenteroloji Bilim Dalı Endosonografi Ünitesi'nde ERCP tanı ve tedavi amacıyla uygulanmıştır. Hastalara işlemle ilgili ayrıntılı bilgi veren 'bilgilendirme formları' okutulmuş işlemi kabul ettiklerine dair 'onay formları' alınmıştır. Tüm hastalarımıza işlem öncesi proflaksi amacıyla seftriakson 1 gr, işlem sırasında barsak kasılmalarını azaltmak amacıyla hiyosin N-metil bromür, bilinçli sedasyon için midazolam ve kardiyorespiratuar monitorizasyon uygulanmıştır. ERCP işlemi endoskopist (C.K.) tarafından yapılmış olup, duodenoskop (ED-450XT5, Fujinon, Tokyo, Japan) kullanılarak floroskopi eşliğinde gerçekleştirilmiştir. Duodenoskop ile duodenum 2. Segmente geçildikten sonra ampulla waterinin konumu tespit edildikten sonra Type wire sfnkteretom ile EST yapıldıktan sonra, koledok selektif kanulize edildi. Tanısal kolanjiogram çekildikten sonra hastaların kanal içerisindeki safra sıvıları aspire edildi. Malign olan hastalarda koledok kanalı içerisine gönderilen sitoloji fırçası ile tümör yüzeyi fırçalanarak sitolojik materyal alındı. İşlem esnasında hastalara 7F 10 cm plastik stend kullanıldı. Bening gruptaki hastalarda ise koledok içerisine girildikten sonra pasajı tıkayan taş, çamur, temizlendikten sonra hastanın koledok kanalının içerisinden safra sıvısı aspire edildi.

Alınan safra sıvıları Tıbbi Genetik laboratuvarında doku izolasyon kiti (instagene matrix) kullanılarak 1-2 ml safra sıvısından santrifüjle çöktürme prensibiyle bilier sistem hücreleri elde edilecektir. Bu hücrelerden, uygun sıcaklıkta inkübasyon, vorteks ve santrifüj aşamalarından sonra DNA izolasyonu tamamlanacaktır. Elde edilen DNA'lar -20 °C'de saklanacaktır. Otomatik analizör ile direkt DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak ekzon 5 ve 8'deki mutasyonlar tespit edildi.

Tablo 2. ERCP den dışlama kriterleri

• Semptomatik konjestif kalp yetmezliği
• Kontrol edilemeyen angina
• Son 6 ayda geçirilmiş myokardial infarkt
• Çalışmaya dahil edilmeden 6 ay önce geçirilmiş serebrovasküler olay
• Çalışma kompliansını etkileyebilecek hiçbir potansiyel problem veya tıbbi kontrendikasyonun bulunması.

3.2. Metod

3.2.1. Endoskopik İnceleme

ERCP incelemesi sırasında malign hastalarda lezyonun biliyer sistemdeki lokalizasyonu incelendi. Distal KK, pankreas adenokarsinomundan ayırt etmek için cerrahi ve histopatolojik doku tanısı sonucu olmayan olgularda ERCP, EUS ve BT görüntüleri kullanıldı.

Bu durumda ise aşağıdaki kriterleri taşıyan malignensiler distal KK olarak kabul edildi:

- 1) Batın USG, Batın BT, MRCP VE EUS ile sadece safra kanalı ile sınırlı olduğu görülen, pankreas kanalının normal olduğu tümöral yapı,
- 2) ERCP ile koledokta sınırlı malign yapı ve normal bir pankreatikogram
- 3) ERCP de koledok içerisinde malign darlık görünümü olan hastalarda alınan sitolojik tetkiklerde malign hücrelerin görülmüş olması,
- 4) Tümörden veya metastazlarından alınan doku biyopsilerinin patolojik inceleme de kolanjiokarsinoma tanısı konmuş olması.

3.2.2. Moleküler İnceleme

Alınan safra sıvıları Tıbbi Genetik laboratuvarında doku izolasyon kiti (instagene matrix) kullanılarak 1-2 ml safra sıvısından santrifüjle çöktürme prensibiyle bilier sistem hücreleri elde edilecektir. Bu hücrelerden, uygun sıcaklıkta inkübasyon, vorteks ve santrifüj aşamalarından sonra DNA izolasyonu

tamamlanacaktır. Elde edilen DNA'lar -20°C 'de saklanacaktır. Otomatik analizör ile direkt DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak ekzon 5 ve 8'deki mutasyonlar tespit edildi.

İstatistiksel değerlendirme;

P53 immünohistokimyasal ekspresyonunun tümörün büyüklüğü, evresi, diferansiyasyonu, lenf nodu metastazı, uzak organ metastazı arasındaki ilişki ki-kare, Fisher's exact test, Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W Test ve logistik regresyon modeli ile değerlendirilmiştir. $P=0.05$ anlamlılık düzeyi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Kontrol Grubu

(Kontrol grubu olan bening gruba 40 hasta alındı. 25 tane koledokta taşı bulunun olgu, 1 tane kolesistit (Mirizzi sendromu) tanılı olgu, 1 adet safra çamuru sonucu koledokta tıkanması bulunan olgu, 4 tane Primer sklerozan kolanjitli olgu, 6 adet post operatif koledok darlığı tanısı koulmuş olgu, 1 adet oddi fibrozisi ve 1 adet kist hidatik safra yollarına rüptürü sonucu oluşan tıkanma ikterli olgu, alındı).

40 hasta alındı, bunarın özellikleri özellikleri tablo 3’de görülmektedir.

Tablo 3. Bening grubu oluşturan hastalar ve sayıları

25	koledokta taş
1	safra çamuru
4	primer sklerozan kolanjit
1	koledokun duodenuma fistülü
6	kolesistektomi sonrası proksimal koledokta bening darlık
1	oddi fibrozisi
1	koledokta polip
1	kist hidatik safra yollarına rüptürü

4.2. Malign Grup

Çalışmamıza katılan, 40 kolanjiokarsinomlu ERKP işlemi sonucunda 16 olgumuz proksimal KK, 22 distal kolanjio, 2 olgumuz ise ampulla wateri tümörü tanısını almıştır.

Tablo 4. Maling grubu oluşturan hastalar ve sayıları

16	Proksimal kolanjio
24	distal kolanjio

Hastalarımızın 31 tanesinde histopatolojik doku tanısı vardı. 9 hastamıza ERCP ve diğer görüntüleme yöntemleri ile tanı konuldu. Bunların 21 tanesi postoperatif doku tanısı idi. 4 hastada karaciğerdeki metastazlarına yönelik perkutan

ince iğne biyopsisi ile tanı konuldu. 3 hastamızda EUS ile alınan İnce iğne aspirasyon biyopsilerinde malign sitoloji rapor edilirken 2 hastamızda ERCP esnasında alınan fırça sitolojisi malign rapor edildi. 1 hastamızda umblikulus cildindeki metatazından tanı konuldu.

Hastalarımızın tanı anında 24 tanesinde evre 4 hastalık vardı. 15 olguda sadece karaciğerde metastaz varken, 7 olguda periton, akciğer, karaciğer metastazı vardı. 1 olguda cilt metastazı görüldü. Hastalardan 17 tanesinde portal ven invazyonu görüldü. 22 olgu da inoperable kabul edildi. Bu hastalardan 17 tanesine koledok içerisine safra akışını sağlayacak plastik stend yerleştirildi. Bu hastalara KT verilmedi. Ortalama yaşam süresi 196 gün olarak bulundu.

Sadece 1 vakada evre 2 kolanjiokarsinom vardı, bu hastada distal kolanjiokarsinom tanısı ile hepatikojejenostomi yapıldı. Hastanın postoperatif doku tanısı adenokarsinom olarak rapor edildi. Hastaya KT verilmedi. Halen yaşamaktadır.

13 hastamızda evre 3 koanjiokarsinomlu ve 2 hastada ampulla wateri tanısı olan olgulardı. 9 tanesi distal tip kolanjiokarsinolu olgu idi, bunlara whipple ve hepatikojejenostomi yapıldı. klastkin tip 1 tanısı alan 1 olgumuz opere olmuş, postoperatif gelişen yara yeri enfeksiyonu ve sepsis nendeiyle ex olmuştur .Bu hastalardan sadece 3 tanesi KT kabul etmiş ve KT almıştır, ortalama yaşam süresi 202 gün olarak bulundu.

Tablo 5. Malign grubu oluşturan hastaların Evreleri, Tümör lokalizasyonu ve Ortalama yaşam süreleri

Tm evresi	Hasta sayısı	Tm lokalizasyonu	Ortalama yaşam süresi
Evre 1	0	Yok	
Evre 2	1	1 Proksimal kolanjiokarsinom	1080 gün
Evre 3	13	11 hasta distal kolanjiokarsinom 2 hasta proksimal kolanjiokarsinom	202 gün
Evre 4	26	13 distal kolanjiokarsinom, 13 proksimal kolanjiokarsinom,	196 gün

Hasta grubunu oluşturan 40 hastada ortak özellik 32 hastanın zirai tarım ürünlerine maruz kalmasıydı. Bu hastalarımız çiftçi olup korumasız olarak zirai tarım ürünü uygulamışlardır. Hastalarımızdan 24'ü kırsalda yaşamakta ve içme suyunu kaynaktan kullanmaktaydı.

4.3. FM Bulguları

Kontrol grubu hastalarından 24 ü sarılık ve ağrı ile başvurdu. 11 inde sadece ağrı vardı, sarılık yoktu. Bu 11 olgunun 2 tanesi sklerozan kolanjit, 1 tanesi post operatif koledok darlığı, 2 tanesi kolesistit ve eşlik eden safra çamuru, 1 tanesi koledokta polip 5 tanesi koledokolitiazis idi. Hastaların FM de 40 hastanın 29 inde ateş mevcuttu, 14 ünde koledokolitiazis ve kolanjit tablosu vardı, 2 sinde koledok fistülü ve safra taşı, 2 sinde kist hidatiğin safra yollarına rüptürü ile birlikte olan kolanjit tablosu vardı.

Kolanjiokarsinomda 40 hastanın hepsinde sarılık vardı. Hastaların hepsinde sarılık ile karın ağrısı ve kilo kaybı da vardı. Hastalarımızın 24 ünde karaciğer büyümüş olarak palpe edildi, bunların hepsinde karaciğer metastazları mevcuttu. Sadece 1 tanesinde dalak büyümüş bulundu. Hastaların 4 ünde FM de Batında kitle palpe edildi. 5 tanesinde hidropik safra kesesi palpe edildi. 4 ünde asid mevcuttu. 2 tanesinde ateşin 37,5 derecenin üzerinde olduğu görüldü.

Tablo 6. Hastaların başvuru yakınmaları

Başvuru yakınması	Malign grup	Bening grup
sarılık	40	24
Sağ üst kadrın ağrısı	40	24
ateş	2	29
Kilo kaybı	40	0

4.4. Laboratuvar Bulguları

Bening gruptaki hastaların başvuru anında; ortalama AST; 144, ALT; 117, GGT;344, ALKP 298, total bilirubin değerleri; 8,3 idi. Bu hastaların ortalama sedimantasyonları 32 olup ortalama CEA düzeyi; 3,2, ortalama Ca19-9 düzeyleri;

Malign gruptaki hastaların başvuru anında ortalama; AST; 202 ALT; 197 GGT; 483, ALKP; 340, total bilirubin değerleri; 28,4 idi. Hastaların ortalama seminantasyon değerleri; 66, ortalama CEA düzeyi; 8,8, ortalama Ca 19-9 düzeyleri; 688 idi.

Tablo 7. Hasta ve kontrol gruplarının labaratuvar değerleri

	n	AST	ALT	GGT	ALKP	T.Bil.
Bening grup	40	144	117	344	298	8,3
Malign grup	40	202	197	483	340	28,4

Tablo 8. Hasta ve Kontrol gruplarının ortalama tümör merker seviyeleri

	n	Sedimantasyon	CEA	Ca 19-9	Ca 19/ CEA
Bening grup	40	32	3,2	186,6	58,31
Malign grup	40	66	11,2	698	62,3

4.5. ERCP Bulguları

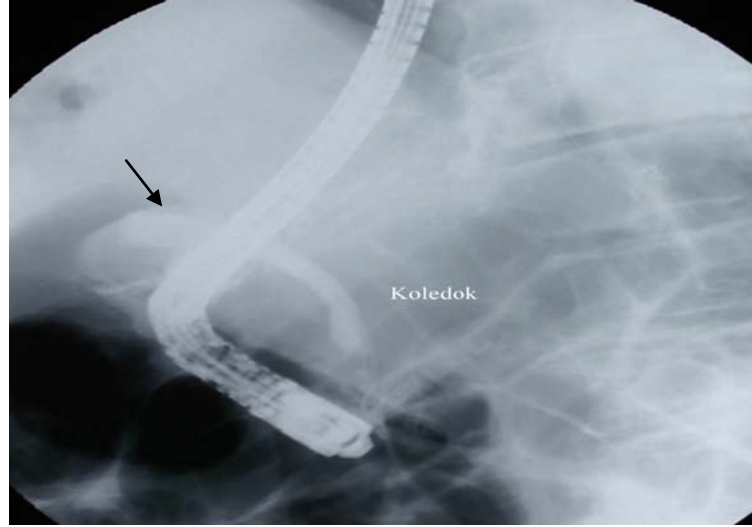
Çalışmamıza katılan, 40 kolanjiokarsinomlu hastanın tamamına ERCP yapıldı ve 37 hastamızda koledok selektif kanülize edildi. ERCP işlemi sonucunda 16 olgumuz proksimal KK, 24 distal kolanjiyo tanısını almıştır.

ERCP de malign gruptaki 24 olgumuzda koledoğun distal kesiminde darlığa neden olan, düzensiz darlık görüldü. Bu hastalarımızdan 3 tanesinde darlık ileri seviyedeydi ve opak maddenin proksimale geçişine izin vermiyordu. Diğer 21 hastada darlık guide wire ile geçildi, İHSY ve koledokta dilatasyon görüldü. Bu hastalara palyatif stend takılarak hastaların tedavisi yapılmış oldu. Bu hastaların pankreatik kanallarında dilatasyon yoktu. Bu hastalardan 13 tanesinde Evre 4 hastalık vardı, inoperable olan bu hastalar plastik stend sayesinde palyatif takip edildiler.

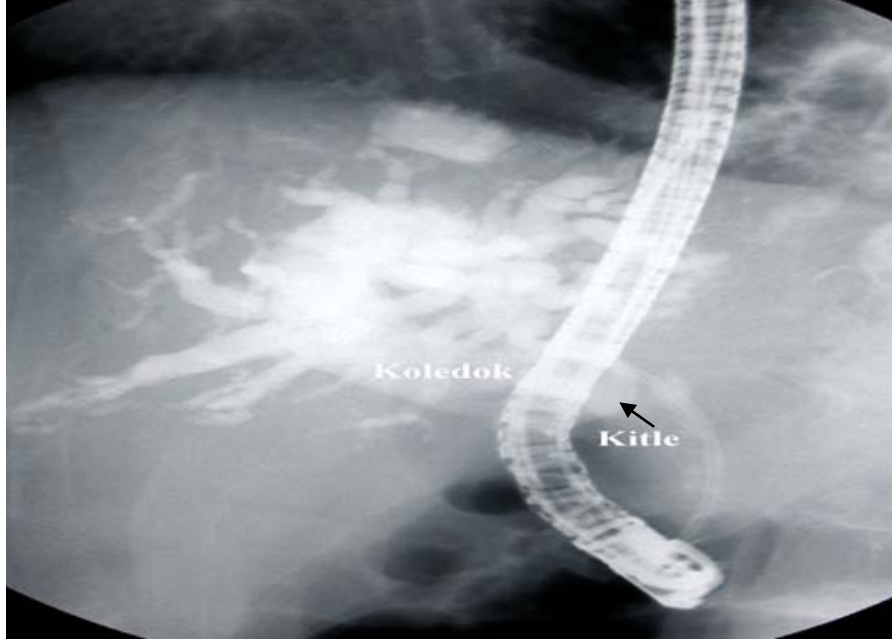
ERCP de, 13 olguda koledoğun proksimal ve hiler kesiminden kaynaklanan proksimale opak madde geçişine mani olan düzensiz darlık görüldü. Bu hastalardan 3 tanesinde tip 2, 3 tanesinde tip 4, 1 tanesinde tip1 ve 1 tanesinde tip 3a Klastkin tümörü tanısı konuldu. Bu hastalardan 1 tanesinde Evre 2 hastalık saptandı. 2

olguda da Evre 3 hastalık saptandı. Bu olgulara preoperatif sarılığın azaltılması için plastik stend takıldı. Preoperatif bilirubin değerleri 3'e kadar geriledi. Diğer 9 olgudan 8 tanesine plastik stend takıldı. 1 olguda (her ikisi de Klastkin tip 4) darlık proksimaline geçilemedi, stend takılmadı. Plastik stend takılan olgular inoperable olgular, stend uygulaması sonrası sarılığı azalan olgular palyatif takip edildi.

Kontrol grubundaki 40 hastadan hepsine ERCP yapıldı. 25 hastada koledokta taş tespit edildi ve bu taşlar ERCP de balon ve basket kateterler kullanılarak çıkarıldı. 6 hastada kolesistektomi sonrası, duktus sistikus seviyesinde opak madde geçişini engelleyen düzgün darlık vardı, bunlardan 5 tanesine stend takılarak safra drenajı sağlandı, sadece 1 vakada ileri derecede darlık olması sebebiyle operasyon önerildi. Kliniğimize rekürren kolanjit ile başvuran 2 olguda ERCP de İHSY de dilatasyonla birlikte koledokta yer yer daralma ve genişlemeler vardı, bu hastalara primer sklerozan kolanjit tanısı konuldu. Tıkanma ikteri ile başvuran 1 hastada ERCP de distal koledokta daralmaya sebep olan düzgün sınırlı lezyonu bulunan hasta opere edilmiş olup postoperatif patolojisi koledokta polip ile uyumlu geldi.



Resim 1. Proksimal kolanjiokarsinomalı olgunun ERCP görünümü. Proksimalde opak madde geçişine engel olan darlık mevcut



Resim 2. Distal kolanjiokarsinomlu olgunun ERCP görünümü. Koledoğun distalde kesintiye uğradığı gözükmemekte

4.6. Manyetik Rezonans Kolanjo Pankreatikogram Bulguları

MRCP de Malign gruptaki 32 olguda İHSY ve koledokta ileri derecede dilatasyon vardı, distal kolanjo ve ampulla wateri tümörü tanısı alan bu hastalarda darlığın lokalizasyonu ERCP ile benzerlik göstermekteydi. 8 olguda İHSY darlık saptandı, ancak 7 olguda darlığın lokalizasyonu belirlenemezken, ERCP de bu olgularda distalde opak madde geçişini tamamen engelleyen malign darlıkla uyumlu görünüm vardı. 32 hastanın 19 inde ön tanı olarak kolanjiokarsinom (13'ü distal kolanjiokarsinom, 6 sı proksimal kolanjiokarsinom) rapor edildi. 13 olgunun 5 ünde taş, 8 inde benign darlık olarak rapor edildi. Bu hastaların ERCP görünümleri 16 sında proksimal kolanjikarsinom, 24 ünde distal kolanjiokarsinomla uyumlu idi. ERCP ile Kolanjiokarsinom tanısı alan 8 hastanın MRCP leri normaldi.

Benign gruptaki 40 hastanın MRCP sinde, 18 hastada taş görülmüş olup, MRCP nin normal olarak rapor ettiği 3 olgudan 1 tanesinde, ERCP de taş görüldü. 2 vakada sklerozan kolanjit tanısı konuldu. Diğer vakalarda ERCP ile uyumlu bulgular vardı.

4.7. Bilgisayarlı Tomografi Bulguları

Malig n gruptaki hastaların ERCP öncesi istenen Radyolojik görüntüleme tetkiklerinde BT tetkiki yapılan 40 olgudan 27'sinde kitle tespit edilmişti. Bu 27 olgunun 18 tanesinde distal koledokta hipodens kitle lezyonu, 5 tanesinde ise proksimal, 2 tanesinde de klastkin bölgesinde hipodens kitle lezyonu tariflenmişti.

2 olguda koledokla ilişkisi net belirlenemeyen kitle lezyonu görüldü. Bu olguların ERCP görüntülemelerinde de aynı lokalizasyonda malig n darlık tespit edildi.

Kitle görülmeyen 1 olguda vasküler invazyon mevcuttu. Bu olgunun ERCP sinde klastkin bölgesinde malig n darlık tespit edildi.

2 olguda karaciğer veya safra kesesinden kaynaklandığı düşünlen kitle lezyonu vardı. Her iki olgudada ERCP de koledok içersinde proksimal safra yollarına opak madde geçişini engelleyen ve malig n darlık vardı.

Periportal patolojik LAP dışında başka kitle lezyonu görülmeyen 1 olguda ERCP proksimal koledokta malig n darlıkla uyumlu görünüm vardı. Bu hastanın EUS görüntülemesinde koledokta kitle lezyonu görüldü. 40 hastanın 22 sinde karaciğer içersinde multiple hipodens kitle lezyonu vardı ve bu görünümle r metastaz ile uyumlu idi. 40 olgudan 11 inde vasküler invazyon vardı.

Benig n gruptaki 40 hastanın sadece 34 tanesinde BT si vardı, 6 tanesinde benig n bilier darlık ile uyumlu olup, bu olguların ERCP, MRCP bulguları bunu desteklemekteydi

4.8. Endoskopik Ultrasonografi Bulguları

EUS görüntülerinde proksimal kolanjiokarsinom tanısı alan 16 hastamızın sadece 12 sinde ERCP'e uyan bölgede kitle lezyonu görülmüştü, diğ er 4 hastanın 3 ünde safra kesesinden kaynaklanabileceğ i belirtilen kitle lezyonu vardı. 1 hastada periportal LAP lerden bahsedilmekte, net bir kitleden bahsedilmemekteydi, bu hastaların BT ve ERCP lerinde malig nite ile uyumlu görünümle r olması üzerine opere edilmiş, intraoperatiif tanıları ve post operatif tanıları kolanjiokarsinom ile uyumlu gelmişti. 4 hastanın 1 tanesinde EUS la portal vende trombüs olduğu rapor

edilmiş, ancak tıkanma ikteri tanısıyla yapılan ERCP de klastkin tip 1 tanısı alan hastada BT de de aynı lokalizasyonda kitle görülmüş, portal ven invaze olduğu için inoperable kabul edilmiş ve ERCP de takılan plastik stendle palyatif takip edilmiştir.

EUS ta, distal kolanjiokarsinom tanısı almış, 22 hastanın 20 sinde distal koledokta hipodens kitle görülmüş olup bu hastalarda koledok dilate görüldü. 1 hastada pankreas baş kesiminde hipodens kitle lezyonu görülmüş, ancak hastanın intraoperatif tanısı distal kolanjiokarsinom olarak rapor edilmiş. 1 hastada EUS ta distal koledok veya pankreas baş kesimden kaynaklanabileceği belirtilen ancak lokalizasyonunun tam ayırd edilemediği kitle lezyonu görülüş olup bu hastanın karaciğerdeki metastazlardan alınan İİAB sisi, papiller tipte kolanjiokarsinom tanısı almış olup, bu inoperable kabul edildi, palyatif takip edildi. 2 hastada safra çamuru koledok taşı rapor edildi.

EUS la 10 hastadan alınan İİAB sonucunda 3 tanesinden malign sitoloji rapor edilmiş olup, 2 tanesinde bening sitoloji, diğer 5 tanesinden non diagnostik sitoloji rapor edildi.

EUS görüntülemelerinde 25 koledokta taş olan olgumuzun sadece 20 inde taştan bahsetmetekydi, diğer 2 vaka safra çamuru olarak rapor edilmişti. ERCP de postoperatif bening bilier darlık olarak tanı alan 6 hastanın 4 ünde darlığı açıklayacak bir patoloji saptanmamış olup, diğer 2 vakada şüpheli malignite olarak rapor edilmiştir. Diğer vakalarda ERCP ve diğer radyolojik görüntüleme bulguları ile uyumlu sonuçlar vardı.

Tablo 9. Malign gruptaki hastaların görüntüleme sonuçları

Olgu No	ERCP tanısı	MRCP tanısı	BT tanısı	EUS Tanısı	Portal ven inv.	Stend
1	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK	(+)	(+)
2	Distal KK	Normal	Koledok ile ilişkisi net belirlenemeyen kitle	Distal KK	(+)	(+)
3	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK		(+)
4	Distal KK	Bening bilier darlık	Distal KK	Distal KK		Başarı sız
5	Proksimal KK	roksimal KK	HCC	Proksimal KK	(+)	Başarı sız
6	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK		(+)
7	Distal KK	Normal	Distal KK	Distal KK		(+)
8	Distal KK	Bening bilier darlık	Pankreas başı	Distal KK	(+)	(+)
9	Proksimal KK	Normal	HCC	Proksimal KK	(+)	Uygulanamadı

10	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK	(+)	(+)
11	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK		(+)
12	Proksimal KK	Normal	HCC	Proksimal KK		(+)
13	Proksimal KK	Proksimal KK	Proksimal KK	Proksimal KK		(+)
14	Distal KK	Normal	Distal KK	Distal KK		
15	Proksimal KK	Proksimal KK	Proksimal KK	Proksimal KK	(+)	
16	Proksimal KK	Proksimal KK	Proksimal KK	Proksimal KK	(+)	
17	Distal KK	Bening bilier darlık	Distal KK	Distal KK		
18	Proksimal KK	Proksimal KK	Proksimal KK	Proksimal KK	(+)	(+)
19	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK	(+)	(+)
20	Proksimal KK	Normal	HCC	Proksimal KK		
21	Proksimal KK	Proksimal KK	Proksimal KK	Proksimal KK		
22	Distal KK	Bening bilier darlık	Distal KK	Distal KK		(+)
23	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK		(+)
24	Proksimal KK	Normal	Karaciğerde metastaz	Proksimal KK	(+)	
25	Proksimal KK	Proksimal KK	Karaciğerde metastaz	Proksimal KK		
26	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK		
27	Proksimal KK	Bening bilier darlık	Proksimal KK	Proksimal KK	(+)	
28	Distal KK	Bening bilier darlık	Koledok ile ilişkisi et belirleneme yen kitle	Distal KK		
29	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK	(+)	(+)
30	Distal KK	Distalde taş	Ampulla wateri	Distal KK		(+)
31	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK		
32	Proksimal KK	Normal	HCC	Proksimal KK		Başarı sız
33	Proksimal KK	Bening bilier darlık	Proksimal KK	Proksimal KK		
34	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK		uygulamadı
35	Distal KK	Distalde taş	Ampulla wateri	Distal KK		
36	Proksimal KK	Proksimal KK	Karaciğerde metastaz	Distal KK		
37	Distal KK	Distal KK	Distal KK	Distal KK		
38	Proksimal KK	Proksimal KK	Distal KK	Distal KK		
39	Distal KK	Distalde taş	Distal KK	Distal KK		(+)
40	Distal KK	Bening bilier darlık	Pankreas başı ca	Distal KK		(+)

4.9. Hastaların Prognozu

Çalışmamıza alınan malign hastalardan, evre 1 hastalık tanısı alan olgu yoktu. 1 tane evre 2 hastalık tanısı konulan hastamıza ERCP de plastik stend takılarak preoperatif bilirubin derglerinin düşmesi sağlanmış ve hastaya Hepatikojejenostomi yapılmıştır. Hastamıza adjuvan KT verilmemiş olup halen yaşamaktadır.

13 hastamızda evre 3 kolanjiokarsinom tanısı konuldu. 11 tanesi distal tip kolanjiokarsinomlu olgu idi, bunlara whipple ve hepatikojejenostomi yapıldı. klastkin tip 1 tanısı alan 1 olgumuz opere olmuş, postoperatif gelişen yara yeri enfeksiyonu ve sepsis nedeniyle ex olmuştur. Bu hastalardan sadece 3 tanesi KT kabul etmiş ve KT almıştır, ortalama yaşam süresi 202 gün olarak bulundu.

3 hastaya adjuvan Sisplatin ve 5 flourourasil verildi. Bu hastalardan 1 tanesinde 2. Kürden sonra toksisite sebebiyle KT alamamıştır. 1 hastada 4. Kürden sonra gelişen kolanjit ve bilirubin yüksekliği sebebiyle KT sinin kesilmesi uygun görülmüştür. 1 hasta 1. KT den sonra kendi isteği ile takipten çıkmış, bir daha KT almıştır.

Hastalarımızın tanı anında 26 tanesinde evre 4 hastalık vardı. 17 olguda sadece karaciğerde metastaz varken, 8 olguda periton, akciğer, karaciğer metastazı vardı. 1 olguda cilt metastazı görüldü. Hastalardan 17 tanesinde portal ven invazyonu görüldü. 26 olgu da inoperable kabul edildi. Bu hastalardan 23 tanesine koledok içerisine safra akışını sağlayacak plastik stend yerleştirildi. Bu hastalara KT verilmedi. Hastaların bilirubin değerlerinde düşme gözlemlendi. 5 hastaya PTK takıldı, bunlardan 2 si daha önce ERCP ile stend takılan hastalardı. Bu hastaların yaşam kalitesi ERCP ile stend takılan hastalardan daha kötüydü ve bu hastaların yaşam süresi plastik stendli hastalara göre daha kısaydı. Palyatif takip edilen hastaların ortalama yaşam süresi 196 gün olarak bulundu

4.10. Safra Sıvısının Moleküler İncelenmesi

Her iki gruptaki hastalardan ERCP işlemi esnasından koledoktan aspire edilen safra sıvıları Tıbbi Genetik laboratuvarında doku izolasyon kiti (instagene matrix) kullanılarak 1-2 ml safra sıvısından santrifüjle çöktürme prensibiyle bilier sistem hücreleri elde edildi. Bu hücrelerden, uygun sıcaklıkta inkübasyon, vorteks

ve santrifüj aşamalarından sonra DNA izolasyonu tamamlandı. Elde edilen DNA'lar otomatik analizör ile direkt DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak ekzon 5 ve 8'deki mutasyonlar tespit edildi.

Kolanjiokarsinomlu hastalardan oluşan hasta grubunda ERCP ile alınan safra sıvısında p 53 geninin 5. Eksonunda 4 adet mutasyon saptandı. Bunlardan 1. Mutasyon 28934576. Kodonda normal pozisyonda Adenin bazı yerine Guanin gelmesiydi. Bu durum malign gruptaki hastaların 38 (%95) inde görülürken 2 hastada (% 5) görülmedi.

Ekson 5 deki 2. mutasyon 34607064 nolu kodonunda sitozin bazının delesyona uğraması idi. Bu mutasyon hastaların 34 ünde (% 85) görülürken 6 hastada (15) izlenmedi.

Ekson 5 deki 3. mutasyon 66759322 nolu kodonda adenozin bazının delesyona uğramasıyla idi. Hastaların 36 sında (% 90) bu mutasyona rastlandı. 4 hastada (% 10) izlenmedi.

Ekson 5 deki 4. mutasyon 67389650 nolu kodonda Timin bazının insersiyona uğraması idi. Hastaların 39 sında (% 97,5) bu mutasyona rastlandı. 1 hastada (% 2,5) izlenmedi.

Ekson 8 de 2 bölgede mutasyona rastlandı. Birinci mutasyon 78378222 nolu kodonda normal pozisyonda Adenin bazı yerine Citozin bazının gelmesiydi. Bu Kolanjiokarsinomlu hastaların 32 sinde (% 85) görüldü, 8 inde (% 15) adenin bazı normal konumunu koruyordu.

Ekson 8 deki 2. mutasyon 35659787 nolu kodonda normal pozisyonda Guanin bazı yerine Cadenin bazının gelmesiydi. Bu Kolanjiokarsinomlu hastaların 32 sinde (% 85) görüldü, 8 inde (% 15) adenin bazı normal konumunu koruyordu.

Bening hastalar ekson 5 deki 1. Mutasyon 28934576. Kodonda normal pozisyonda Adenin bazı yerine Guanin gelmesiydi. Bu durum benign gruptaki hastaların 36 (%80) inde görülürken 4 hastada (% 10) görülmedi.

Ekson 5 deki 2. mutasyon 34607064 nolu kodonunda citozin bazının delesyona uğraması idi. Bu mutasyon hastaların 35 sinde (% 87,5) görülürken 5 hastada (12,5) izlenmedi.

Ekson 5 deki 3. mutasyon 66759322 nolu kodonda adenozin bazının delesyona uğramasıyla idi. Hastaların 34 sında (% 85) bu mutasyona rastlanıldı. 6 hastada (% 15) izlenmedi.

Ekson 5 deki 4. mutasyon 67389650 nolu kodonda Timin bazının insersiyona uğraması idi. Hastaların 34 sında (% 85) bu mutasyona rastlanıldı. 6 hastada (% 15) izlenmedi.

Ekson 8 de 2 bölgede mutasyona rastlanıldı. Birinci mutasyon 78378222 nolu kodonda normal pozisyonda Adenin bazı yerine sitozin bazının gelmesiydi. Bu hastaların 33 sinde (% 82,5) görüldü, 7 inde (% 17,5) adenin bazı normal konumunu koruyordu.

Ekson 8 deki 2. mutasyon 35659787 nolu kodonda normal pozisyonda Guanin bazı yerine Cadenin bazının gelmesiydi. Bu hastaların 20 sinde (% 50) görüldü, 20 inde (% 50) adenin bazı normal konumunu koruyordu.

Malign ve Bening grupla karşılaştırıldığında Ekson 5 deki 28934576 nolu kodondaki mutasyon için için anlamlı farklılık saptanılmadı ($p > 0,05$).

Malign ve Bening gruplar karşılaştırıldığında mutasyonun varlığı açısından Ekson 5 in 34607064 nolu kodonu, 65389650 nolu kodonu, ekson 8 in 78378222 nolu kodonu, 35659787 nolu kodonunda anlamlı farklılık vardı. ($p < 0,05$).

Tablo 10. Hasta ve kontrol grubunda mutasyon yüzdeleri

		Grup					p
		Benign		Malign		Total	
		n	%	n	%	n	
m28934576	mutasyon var	36	49,32	37	50,68	73	1,000
	mutasyon yok	4	57,14	3	42,86	7	
m3407064	mutasyon var	30	44,78	37	55,22	67	0,034
	mutasyon yok	10	76,92	3	23,08	13	
m66759322	mutasyon var	31	45,59	37	54,41	68	0,060
	mutasyon yok	9	75,00	3	25,00	12	
m65389650	mutasyon var	32	45,07	39	54,93	71	0,029
	mutasyon yok	8	88,89	1	11,11	9	
m78378222	mutasyon var	19	33,93	37	66,07	56	<0,001
	mutasyon yok	21	87,50	3	12,50	24	
m35659787	mutasyon var	19	32,76	39	67,24	58	<0,001
	mutasyon yok	21	95,45	1	4,55	22	
Total		40	50,00	40	50,00	80	

Tablo 11. Malign grupta mutasyonlara göre cinsiyet dağılımı

		MALIGN					p
		Cinsiyet					
		Erkek		Kadın		Total	
		n	%	n	%	n	
m28934576	mutasyon var	18	48,65	19	51,35	37	,238
	mutasyon yok	0	0,00	3	100,00	3	
m3407064	mutasyon var	17	45,95	20	54,05	37	1,000
	mutasyon yok	1	33,33	2	66,67	3	
m66759322	mutasyon var	17	45,95	20	54,05	37	1,000
	mutasyon yok	1	33,33	2	66,67	3	
m65389650	mutasyon var	18	46,15	21	53,85	39	1,000
	mutasyon yok	0	0,00	1	100,00	1	
m78378222	mutasyon var	16	43,24	21	56,76	37	,579
	mutasyon yok	2	66,67	1	33,33	3	
m35659787	mutasyon var	18	46,15	21	53,85	39	1,000
	mutasyon yok	0	0,00	1	100,00	1	
Total		18	45,00	22	55,00	40	

Malign gruptaki 40 hastanın 22 (55) si kadın, 18 (45) i erkekti. Malign gruptaki hastaların cinsiyeti ile mutasyon bölgeleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanılmadı. Cinsiyetin malign gruptaki hastalardaki mutasyon bölgesi üzerine etkisi olmadığı düşünöldü.

Tablo 12. Bening grupta mutasyonlara göre cinsiyet dağılımı

		BENIGN					p
		Cinsiyet			Total		
		Erkek		Kadın			
		n	%	n	%		
m28934576	mutasyon var	19	52,78	17	47,22		36
	mutasyon yok	3	75,00	1	25,00	4	
m3407064	mutasyon var	18	60,00	12	40,00	30	,271
	mutasyon yok	4	40,00	6	60,00	10	
m66759322	mutasyon var	17	54,84	14	45,16	31	1,000
	mutasyon yok	5	55,56	4	44,44	9	
m65389650	mutasyon var	19	57,58	13	39,39	33	,430
	mutasyon yok	3	37,50	5	62,50	8	
m78378222	mutasyon var	10	52,63	9	47,37	19	,775
	mutasyon yok	12	57,14	9	42,86	21	
m35659787	mutasyon var	9	47,37	10	52,63	19	,356
	mutasyon yok	13	61,90	8	38,10	21	
Total		22	55,00	18	45,00	40	

Bening gruptaki 40 hastanın 22 (55) si, erkek, 18 (45) i kadındı. Bening gruptaki hastaların cinsiyet ve mutasyon bölgeleri karşılaştırıldığında itatistiksel aıdan anlmlı fark saptanılmadı.

Tablo 13. Mutasyonlara göre yaş ortalaması

		N	YAŞ		
			Ortalama	Std. Sapma	p
m28934576	mutasyon var	37	64,97	13,704	0,719
	mutasyon yok	3	61,67	11,547	
m3407064	mutasyon var	37	65,25	12,998	0,625
	mutasyon yok	3	68,00	11,790	
m66759322	mutasyon var	37	65,25	12,998	0,625
	mutasyon yok	3	68,00	11,790	
m65389650	mutasyon var	39	65,74	12,839	0,435
	mutasyon yok	1	55,00	.	
m78378222	mutasyon var	37	65,47	13,136	0,959
	mutasyon yok	3	65,33	9,292	
m35659787	mutasyon var	39	65,74	12,839	0,435
	mutasyon yok	1	55,00	.	

Malign gruptaki hastaların mutasyonlara göre yaş ortalaması değerlendirildiğinde mutasyonu olan hastalarla mutasyonu saptanmayan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Tablo 14. Malign grupta mutasyonlara göre CEA düzeyleri

		n	CEA		
			Ortalama	Std. Sapma	p
m28934576	Mutasyon var	37	11,6847	17,46582	0,712
	mutasyon yok	3	5,9967	4,95964	
m3407064	mutasyon var	37	11,8606	17,43470	0,635
	mutasyon yok	3	3,8867	,60699	
m66759322	mutasyon var	37	11,8606	17,43470	0,635
	mutasyon yok	3	3,8867	,60699	
m65389650	mutasyon var	39	11,4561	17,04609	0,534
	mutasyon yok	1	3,3100	.	
m78378222	mutasyon var	37	11,9294	17,39641	0,304
	mutasyon yok	3	3,0600	1,67902	
m35659787	mutasyon var	39	11,4561	17,04609	0,534
	mutasyon yok	1	3,3100	.	

Malign gruptaki hastaların CEA düzeyleri mutasyonu olan ve olmayan hastalarla karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

Tablo 15. Malign grupta mutasyonlara göre CA19 düzeyleri

		CA19			
		n	Ortalama	Std. Sapma	p
m28934576	mutasyon var	37	664,2944	667,39963	0,082
	mutasyon yok	3	1439,0000	959,55615	
m3407064	mutasyon var	37	715,5167	696,08456	0,895
	mutasyon yok	3	824,3333	1025,13674	
m66759322	mutasyon var	37	715,5167	696,08456	0,895
	mutasyon yok	3	824,3333	1025,13674	
m65389650	mutasyon var	39	690,4895	686,55521	0,100
	mutasyon yok	1	1993,0000	.	
m78378222	mutasyon var	37	662,3222	668,50482	0,077
	mutasyon yok	3	1462,6667	915,96743	
m35659787	mutasyon var	39	690,4895	686,55521	0,100
	mutasyon yok	1	1993,0000	.	

Malign gruptaki hastaların Ca19-9 düzeyleri mutasyonu olan ve olmayan hastalarla karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanılmadı.

Tablo 16. Malign grupta mutasyonlara göre tümör lokalizasyonları

		Tm lokalizasyon									
		İntrahepatik		Klatskin		Distal koledok		Ampulla		n	p
		n	%	n	%	n	%	N	%		
m28934576	mutasyon var	7	19,44	12	33,33	14	36,11	4	11,11	37	0,920
	mutasyon yok	1	33,33	1	33,33	1	33,33	0	0,00	3	
m3407064	mutasyon var	8	22,22	11	30,56	14	36,11	4	11,11	37	0,528
	mutasyon yok	0	0,00	2	66,67	1	33,33	0	0,00	3	
m66759322	mutasyon var	8	22,22	11	30,56	14	36,11	4	11,11	37	0,528
	mutasyon yok	0	0,00	2	66,67	1	33,33	0	0,00	3	
m65389650	mutasyon var	8	21,05	12	31,58	15	36,84	4	10,53	39	0,546
	mutasyon yok	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00	1	
m78378222	mutasyon var	7	19,44	11	30,56	15	38,89	4	11,11	37	0,342
	mutasyon yok	1	33,33	2	66,67	0	0,00	0	0,00	3	
m35659787	mutasyon var	8	21,05	12	31,58	15	36,84	4	10,53	39	0,413
	mutasyon yok	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00	1	
Total		8	20,51	13	33,33	15	35,90	4	10,26	40	

Malign gruptaki hastalardan 8 tanesinde (20) İntrahepatik kolanjiokarsinom 13 hastada Klastkin (33), 14 hastada distal (35,9) kolanjiokarsinom vardı. 2 hastada ampulla wateri tümörü vardı. Tümörleri yerleşim yerlerine göre belirgin bir mutasyon noktası saptanılmadı.

Tablo 17. Malign grupta mutasyonlara göre tümör boyutları

		TÜMÖR BOYUTLARI			
		n	Ortalama	Std. Sapma	p
m28934576	mutasyon var	37	4,3833	2,61681	0,853
	mutasyon yok	3	4,5667	2,13620	
m3407064	mutasyon var	37	3,9611	2,05347	0,009
	mutasyon yok	3	9,6333	2,47049	
m66759322	mutasyon var	37	3,9611	2,05347	0,009
	mutasyon yok	3	9,6333	2,47049	
m65389650	mutasyon var	39	4,3289	2,55712	0,264
	mutasyon yok	1	7,0000	.	
m78378222	mutasyon var	37	4,2639	2,58867	0,138
	mutasyon yok	3	6,0000	1,73205	
m35659787	mutasyon var	39	4,3289	2,55712	0,264
	mutasyon yok	1	7,0000	.	

Malign grupta ekson 5 in 3407064 nolu bölgesindeki mutasyona sahip olan ve olmayan grupların tümör boyutları arasında anlamlı farklılık saptanılmıştır. (p= 0,009)

Benzer şekilde malign grupta ekson 5 in 66759322 nolu bölgesindeki mutasyona sahip olan ve olmayan grupların tümör boyutları arasında anlamlı farklılık saptanılmıştır. (p= 0,009). Bu mutasyona sahip olanlarda tümörler daha küçük boyutlardaydı.

Tablo 18. Malign grupta mutasyonlara göre damar invazyonları

		Damar invazyonu				p
		var		yok		
		n	%	n	%	
m28934576	mutasyon var	21	58,33	16	41,67	0,543
	mutasyon yok	3	100,00	0	0,00	
m3407064	mutasyon var	21	58,33	16	41,67	0,543
	mutasyon yok	3	100,00	0	0,00	
m66759322	mutasyon var	21	58,33	16	41,67	0,543
	mutasyon yok	3	100,00	0	0,00	
m65389650	mutasyon var	23	60,53	16	39,47	0,847
	mutasyon yok	1	100,00	0	0,00	
m78378222	mutasyon var	21	58,33	16	41,67	0,543
	mutasyon yok	3	100,00	0	0,00	
m35659787	mutasyon var	23	60,53	16	39,47	0,847
	mutasyon yok	1	100,00	0	0,00	
Total		24	61,54	16	38,46	

Malign gruptaki hastalarda, portal ven invazyonu ile mutasyonlu bölgelerin ilişkisi karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır. P 53 geninde yukarıda belirtilen mutasyonlara sahip olmanın portal ven invazyonu açısından etkisi belirgin değildir.

Tablo 19. Malign grupta mutasyonlara göre lenf nodu tutulumu

		Lenf Nodu Tutulumu						p
		N1		N2		N3		
		n	%	n	%	n	%	
m28934576	mutasyon var	6	16,67	6	16,67	25	66,67	0,467
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	3	100,00	
m3407064	mutasyon var	6	16,67	6	16,67	25	66,67	0,467
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	3	100,00	
m66759322	mutasyon var	6	16,67	6	16,67	25	66,67	0,467
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	3	100,00	
m65389650	mutasyon var	6	15,79	6	15,79	27	68,42	0,762
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	1	100,00	
m78378222	mutasyon var	6	16,67	6	16,67	25	66,67	0,467
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	3	100,00	
m35659787	mutasyon var	6	15,79	6	15,79	27	68,42	0,762
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	1	100,00	
Total		6	15,38	6	15,38	28	69,23	

Mutasyon olan ve olmayan vakarla lenf nodu tutulumu arasındaki ilişki değerlendirilmiş, aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanılmamıştır. P 53 geninde mutasyona sahip olmak lenf nodu tutulumu ile ilişkilendirilememiştir.

Tablo 20. Malign grupta mutasyonlara göre tümör evrelemesi

		Evre						p
		evre2		evre3		evre4		
		n	%	n	%	n	%	
m28934576	mutasyon var	1	2,78	13	30,56	23	66,67	0,596
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	3	100,00	
m3407064	mutasyon var	1	2,78	13	30,56	23	66,67	0,596
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	3	100,00	
m66759322	mutasyon var	1	2,78	13	30,56	23	66,67	0,596
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	3	100,00	
m65389650	mutasyon var	1	2,63	13	28,95	25	68,42	0,440
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	1	100,00	
m78378222	mutasyon var	1	2,78	13	30,56	23	66,67	0,596
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	3	100,00	
m35659787	mutasyon var	1	2,63	13	28,95	25	68,42	0,440
	mutasyon yok	0	0,00	0	0,00	1	100,00	
Total		1	2,56	13	28,21	26	69,23	

Mutasyon olan ve olmayan hastaların tümör evreleri değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır. Mutasyonun varlığı ile hastalığın evresi ilişkilendirilememiştir.

5. TARTIŞMA

Kolanjiokarsinom safra yollarından kaynaklanan, malign ve karaciğerin diğer primer tümörü olan hepatosellüler karsinoma oranla nisbeten daha seyrek görülen bir tümördür. KK'lar anatomik lokalizasyonlarına göre intrahepatik (İHKK) ve ekstrahepatik (EHKK) olarak kategorize edilirler. Bu iki grup arasında klinik, patolojik ve epidemiyolojik farklılıklar mevcuttur (37). Bu hastalık; tanısının genellikle ileri evrelerde konması, radyolojik olarak görüntülenmesinin güç olması ve cerrahi dışı etkili bir tedavisinin olmaması nedeniyle mortalitesi yüksektir (37). Bir çok hasta tanı konulduğunda inoperabl olup performans durumlarında hızlı düşüş ve kanser kaşeksisi nedeniyle 12 ay içinde kaybedilirler. Karaciğer yetersizliği ve safra kanal tıkanıklıklarına ikincil tekrarlayıcı sepsis de yüksek mortaliteye katkıda bulunmaktadır (38).

Günümüzde görüntüleme yöntemleri oldukça gelişmiş olmakla birlikte KK, görüntüleme yöntemleriyle tanı konulması zor bir hastalıktır. Genellikle hastalarda, ilk olarak abdominal USG'de safra kanallarında taş dışı obstrüksiyon bulgularının olması ile düşünülür. USG ile proksimal lezyonlarda sadece İHSY'da genişleme vardır, distal lezyonlarda ise hem İHSY'da hem de EHSY'da genişleme görülebilir (39).

Bu sebeble insidansı giderek artan bu tümörde yeni tanı metodlarının geliştirilmesine çalışılmaktadır. Yeni görüntüleme yöntemleri ile birlikte fırçalama sitolojileri yeni uygulamaya giren yöntemlerdir. Moleküler tanı yöntemleri son zamanlarda üzerinde durulan bir alternatiftir. Gelişmiş moleküler biyoloji, kolanjiokarsinom karsinogenezinde rol alan moleküler faktörlerin belirlenmesi, risk faktörlerinin yok edilmesi önleme, tanı, tedavi ve prognoza katkı sağlamıştır.

Safra sıvısı kullanılarak yapılan önceki çalışmalarda, safra sitolojisinin sensitivitesini 33, spesifitesini 100 olarak bulmuştur. Moleküler yöntemlerin sensitivitesi; 25, spesifitesi; 75'tir. Sitoloji ile birlikte moleküler biyomarkerların çalışılmasının sensitivitesi; 50, spesifitesi; 97'e yükseldiği bulunmuş. (41) Safra kanalına fırçalama yapılmasının tümör yüzeyinden dökülen hücreleri artırarak daha fazla DNA elde edilmesini sağlar. Bu da yanlış negatiflikleri azaltacağı ,sensitiviteyi ve spesifiteyi artıracığını düşündürmektedir.

Tümör süpresör genlerin inaktive olması ve onkogenlerin aktive olmasıyla hücrelerde maling trasformasyon görülür ve tümör oluşur. Kimyasal ajanlar ile P53 tümör süpresör gen mutasyonu daha önce birçok insan malignitesinde gösterilmiştir. Kolanjiokarsinomda immünohistokimyasal olarak ve moleküler epidemiyolojik çalışmalarla p53 gen mutasyonu gösterilmiştir, fakat temel olarak exon 5-8 de çalışılmıştır. Totalde 90'dan fazla farklı p53 gen mutasyonu kolanjiokarsinomda tanımlanmıştır, farklı toplumlarda farklı coğrafyalarda farklı çevresel toksinlere bağlı farklı p53 mutasyonları görülmektedir. (43). Gelişmiş moleküler biyoloji, kolanjiokarsinom karsinogenezinde rol alan moleküler faktörlerin belirlenmesi, risk faktörlerinin yok edilmesi önleme, tanı, tedavi ve prognoza katkı sağlamıştır.

İmmünohistokimyasal olarak p53 proteinin ekspresyonu sıklıkla p53 mutasyonu ile koreledir. Ancak p53 geninde delesyon ile kayıp söz konusu ise, p53 proteini sentezlenemeyeceğinden immünohistokimyasal olarak p53 genindeki delesyonları saptamak mümkün değildir. P53 geninde allel kaybı ile anormal p53 proteinin dokularda immünohistokimyasal yöntemlerle saptanması aynı dönemlerde olmayabilir. Ayrıca immünohistokimyasal p53 pozitifliği gösteren olguların tamamında da gende mutasyon söz konusu değildir (36). Dokuda p53 proteininin görülmesi hücrenin kanserleşmesi için üretimin başladığını prognozun ağır olduğunu düşündürmektedir.

Kolon, akciğer, mesane, meme, karaciğer, özofagus, deri, over karsinomlarında yumuşak doku ve osteojenik sarkomlarda ayrıca lenfoma ve lösemilerde p53 gen mutasyonu sık görülmektedir (36). Yumuşak doku karsinomlarında 30, over kaynaklı tümörlerde 92, akciğer tümörlerinde 50-75, renal karsinomlarda 60, gliomlarda 57 oranında p53 pozitifliği görülmektedir. Tiroid kanseri ve T hücreli lösemilerde p53 gen değişikliği hiç görülmezken beyin ve endometrial tümörlerde p53 gen mutasyonu daha düşük seviyelerde saptanmıştır (54,55,56,57,58,60).

Solid tümörlerde p53 gen mutasyonu en sık kolorektal kanserlerde görülmektedir. Kolorektal karsinomlarda p53 gen mutasyonu hastalığın prognozunu yansıtmada önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir (62,63,64).

Primer hepatoselüler karsinomlarda en sık rastlanan mutasyon p53 gen mutasyonudur (54).

Küçük hücreli akciğer karsinomlarında 70 oranında saptanırken diğer akciğer kanserlerinde daha düşük düzeydedir (66).

Meme kanserlerinde p53 gen mutasyonu 23-46 oranında görülebilmektedir (36,57,67,68). P53 pozitifliği saptanan meme tümörlerinde ve özellikle lenf nodu metastazı olanlarda prognozun çok ağır olduğu tespit edilmiştir. P53 gen ekspresyonunun genelde kötü prognoz ve sağ kalım süresinde azalma ile birlikte dir(67).

Astrositik tümörlerde yapılan p53 gen mutasyonu çalışmalarında; ileri evrede p53 gen mutasyonuna daha sık oranda saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda Erken evre tümörlerde p53 gen mutasyonunun saptanması prognozun ağır olduğunu göstermiştir(68).

Sarkomlarda p53 gen mutasyonu 30 oranında görülmektedir (68).

Hematolojik malignitelerde p53 gen mutasyonu ilk olarak kronik myeloid lösemi olgularında gösterilmiştir. Hematolojik malignitelerin 11'inde p53 geninde nokta mutasyonu saptanmıştır (68,69). Akut myeloblastik lösemili olgularda p53 gen mutasyonu sık görülmektedir. Marshal ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada kronik myelositer lösemili olgularda p53 pozitifliğini 60 oranında bulmuşlar ve bu hastalarda p53 gen mutasyonunun varlığının prognozu etkileyen bir parametre olduğunu saptamışlardır (68,69).

Rodrigues P53 pozitif lenfomalı olgularda p53 negatif lenfomalı olgulara göre daha kötü bir prognoza sahip olduğunu tespit etmişlerdir (70).

Sauter ve arkadaşları dil tabanından köken alan skuamöz hücreli karsinomların 20'sinde p53 pozitifliği buldu. İlginç olarak p53 pozitif olguların artmış sağ kalım göstergesi olduğu sonucuna vardılar (57).

Prostat kanseri olgularında p53 mutasyon sıklığının 2-17 oranında bulunmuş, p53 mutasyonunun prostat kanseri gelişiminde geç olarak ortaya çıktığı kötü prognoz ve hormonal tedaviye dirençle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Ancak p53 tümör

baskılayıcı geni ile prostat kanseri arasındaki ilişkiye ait bulgular oldukça çelişkilidir(68).

Literatürde gasrointestinal maligniteler içinde; özofagus kanserlerinde 10-80 oranında gastrik karsinomlarda 56.3 oranında hepatoselüler karsinomlarda 19-61 oranında p53 gen değişikliği saptanmıştır (36,54,68).

Kolorektal tümörlerde p53 gen mutasyonu 12.5-100 oranında saptanmıştır (54,55,56,57,58,60)

Pankreas malignitelerinde ise p53 gen mutasyonları yaklaşık 60 oranında görülmektedir. Kolanjiokarsinomlarda ise p53 genin farklı mutasyonu değişik çalışmalarda 33-58 oranında saptanılmıştır.(52)

Kolanjiokarsinomda P53 sekanslarıyla yayınlanmış batı ülkelerinde sadece 5 çalışma vardır. Bu çalışmalarda Tullo A ve ark., Torre G. ve ark., Jonas S ve ark., Sturm Pd. Ve ark, Tannapfel A ve ark. Yaptıkları çalışmalarda p 53 ün ekson 5-8 de >80 mutasyon saptamışlardır. Bunlarda çok az olgu incelenmiş ve 5-8. Exonlara odaklanılmış. Hiçbir çalışmada p53 ün tüm exonları incelenmemiş, bu yüzden gözden kaçmış pek çok önemli mutasyon olabilir. Kolanjiokarsinomlarda ise p53 genin farklı mutasyonu değişik çalışmalarda 33-58 oranında saptanılmıştır. p53 proteininin N terminal transkripsiyonel fonksiyonlarında önemlidir ve exon 2-4 tarafından kodlanır. C terminal DNA tamirinde ve apoptozisin uyarılmasında önemlidir ve exon 9-11 tarafından kodlanır. İnsan Kolanjiokarsinomunda insersiyon ve delesyonlar görülür fakat en sık görülenler nokta mutasyonlardır ve bunlar N ve C terminallerinde görülür. İnsan kanser çalışmalarında insersiyon ve delesyonlar exon 2-4 ve 9-11 de 5-8 e göre daha sık görülür. Kang. ve arkadaşları 40 hastayı incelemişler ve 15 olguda en az 2 gende anormallik bulmuşlardır.(42,45)

Literatürde p53 gen değişiklikleri ile cinsiyet ve yaş arasında ilişki oldukça sık oranda araştırılmıştır. Olgularımızda cinsiyet ile p53 pozitifliği arasında istatistiksel bir ilişki saptanmadı. Bu bulgumuz literatür ile uyum göstermekte cinsiyetin p53 gen değişikliğini etkileyen bir faktör olmadığını düşünmekteyiz.

Yaş kolanjiokarsinom prognozunda etkili faktörlerden birisidir. Özellikle 60 yaş ve üzerindeki olgularda prognoz daha ağır seyretmektedir. Bizim çalışmamızda yaş ve p 53 genindeki mutasyonlarla ilişkisini bulamadık.

Literatürde bu güne kadar yapılan çalışmalarda ortak saptanan nokta; tümörün safhası ile gen değişikliği arasında pozitif ilişkidir (82). Xiao-Fang Liu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kolanjiokarsinomlu dokularda p53 gen mutasyonları ve p53 protein salınımları; exonların 5-8 indeki. P53 gen mutasyonları 36 hastanın 22 sinde mutasyon görülürken 19 olguda (52.8) p53 proteini pozitif. P53 proteini kolanjik epitel hücrelerinin çekirdeğinde lokalize olduğu bulunmuştur. Ayrıca P53 protein salınımı olanlar ve olmayanlar arasında differansiasyon ve invazyon açısından belirgin farklılıklar bulunmuş. Bununla birlikte mutasyon olanlar ile olmayanlar arasında yaş, cinsiyet, differansiasyon ve invazyon derecesi, lenf nodu metastazı , tümör evresi yönünden belirgin fark görülmemiş. Bizim çalışmamızda da yaş, cinsiyet, lenf nodu metastazı, Portal ven invazyonu, tümör evresi ile p 53 gen mutasyonu ile anlamlı bir ilişki bulunamadı. Bu durum bizim çalışmamızdaki hastaların çoğunun ileri evrede olması ve tüm mutasyon bölgelerinin hastalarda benzer sayıda ve yüksek oranda bulunuyor olmasıydı. P 53, ekson 5 deki 3407064 nolu bölgesi ve 66759322 nolu bölgesindeki mutasyonlar tümör daha küçük boyutlardayken (ortalama 3 cm) ortaya çıkmış olduğunu saptadık. Ancak bu mutasyonların hastalığın sağ kalımı üzerine etkisi yoktu.

SONUÇ

SDÜ Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji kliniğine Kasım 2008- Mayıs 2011 tarihleri arasında İç Hastalıkların Gastroenteroloji bilim dalında Kolanjiokarsinom tanısı alan hastaların Safra sıvısında P 53 geninin ekson 5 ve ekson 8 de farklı kodonlarda mutasyonlarına bakıldı. Ekson 5 de 4 farklı bölgede, ekson 8 de 2 farklı bölgede mutasyonlara rastlanıldı. Bu mutasyon alanları daha önceki çalışmalarda tanımlanmamış mutasyonlardı. Bu durum farklı coğrafyalarda farklı genetik yapıya sahip olmak ve farklı mutajenlere maruz kalmakla ilişkili olabilir.

Bununla birlikte mutasyon olanlar ile olmayanlar arasında yaş, cinsiyet, portal ven invazyon derecesi, lenf nodu metastazı, tümör evresi yönünden belirgin fark görülmedi.

Bu mutasyonların hepsinin klinikte kullanımında tanı kriteri olmaya yetmeceği, ancak tanıyı kuvvetlendirici bir kriter olabileceği düşünüldü.

ÖZET

Kolanjiokarsinomalı Hastalarda ERCP ile Elde Edilen Safra Sıvısında P 53 Gen Mutasyonu Saptamak Tanı için Kullanılabilir mi?

Giriş: Kolanjiokarsinoma (KK) safra yolları epitelinden köken alan, agresif bir kanser türüdür. Günümüzde yeni tanısal tekniklerin ortaya çıkmasına rağmen KK tanısını koymak ve cerrahi öncesi değerlendirmesini yapmak oldukça güçtür. Diğer kanser ve metastazlarından (Örn: pankreas kanseri) ve iyi huylu safra kanalı darlıklarından ayırt edilmesi çok önemlidir.(4-5)

Materyal ve Metod: Çalışma, araştırmaya katılan gönüllüler SDÜ Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji kliniğine Kasım 2008- Mayıs 2011 tarihleri arasında KK tanısı konulan 40 hasta ve malignitesi olmayan 40 hasta (kontrol grubu) alındı. Bu hastaların ERCP ile safra sıvıları alınarak p 53 tümör supresör geninde ekson 5-8 nolu kodonlarında mutasyon araştırıldı.

Bulgular: Kolanjiokarsinomlu hastalardan oluşan hasta grubunda ERCP ile alınan safra sıvısında p 53 geninin 5. Eksonunda 4 adet mutasyon saptandı. Bunlardan 1. Mutasyon 28934576. Kodonda normal pozisyonda Adenin bazı yerine Guanin gelmesiydi. Bu durum malign gruptaki hastaların 38 (95) inde görülürken 2 hastada (5) görülmedi.

Ekson 5 deki 2. mutasyon 34607064 nolu kodonunda citozin bazının delesyona uğraması idi. Bu mutasyon hastaların 34 sinde (85) görülürken 6 hastada (15) izlenmedi.

Ekson 5 deki 3. mutasyon 66759322 nolu kodonda adenozin bazının delesyona uğramasıyla idi. Hastaların 36 sında (90) bu mutasyona rastlanıldı. 4 hastada (10) izlenmedi.

Ekson 5 deki 4. mutasyon 67389650 nolu kodonda Timin bazının insersiyona uğraması idi. Hastaların 39 sında (97,5) bu mutasyona rastlanıldı. 1 hastada (2,5) izlenmedi.

Ekson 8 de 2 bölgede mutasyona rastlanıldı. Birinci mutasyon 78378222 nolu kodonda normal pozisyonda Adenin bazı yerine Citozin bazının gelmesiydi. Bu Kolanjiokarsinomlu hastaların 32 sinde (85) görüldü, 8 inde (15) adenin bazı normal konumunu koruyordu.

Ekson 8 deki 2. mutasyon 35659787 nolu kodonda normal pozisyonda Guanin bazı yerine adenin bazının gelmesiydi. Bu Kolanjiokarsinomlu hastaların 32 sinde (85) görüldü, 8 inde (15) adenin bazı normal konumunu koruyordu.

Sonuç: Yaptığımız prospektif çalışmada KK lu olgularda safra sıvısında p 53 gen mutasyonu araştırık ve ekson 5-8 de daha önce tanımlanmamış mutasyonları tanımladık. Bu mutasyon alanları daha önceki çalışmalarda tanımlanmamış mutasyonlardı. Bu durum farklı coğrafyalarda farklı genetik yapıya sahip olmak ve farklı mutasyonlara maruz kalmakla ilişkili olabilir.

Bu mutasyonların hepsinin klinikte kullanımında tanı kriteri olmaya yetmeceği, ancak tanıyı kuvvetlendirici bir kriter olabileceği düşünüldü.

Anahtar kelimeler: Kolanjiokarsinom, P53 mutasyonu, ERCP

SUMMARY

Identification of p53 Mutation in Bile Sample with Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography in Diagnosis of Bilier Cancer

Introdution: Cholangiocarcinoma (CC) is an agresive cancer arising from epithelium of bile ducts. Despite recent developments in diagnostic methods, preoperative diagnosis and evaluation of CC is difficult. Abdominal ultrasonography (USG), computed tomography (CT), endoscopic ultrasonography (EUS), magnetic resonance cholangiopancreatography (MRCP) and endoscopic retrograd cholangiopancreatography (ERCP) are the most preferred methods for the diagnosis and preoperative evaluation of CC.

Material and Metod: The study surveyed volunteers SDU Faculty of Medicine, Gastroenterology clinic in November 2008 - May 2011, 40 patients diagnosed between RC and non malignitasi 40 patients (control group) were included. Bile fluids of patients taking by ERCP and analyzed p 53 tumor suppressor gene mutations in exons 5-8.

Results: Four mutations were identified on 5 th exon of p53 gene, in the gall bladder fluid of patients with cholangiocarsinoma group. One of the mutations was, the presence of guanine instead of adenine base in the normal position on the codone 28934576. This interchange was determined in 38 patinents (95)but not in 2 cases of malign patients group.

The second mutation on exon 5 is, deletion of cytosine base on codone 34607064. This type of mutation was seen in 34 patients (85) but not in 6 cases (15).

The third mutation on exon 5 is, deletion of adenosine base on codone 66759322. This type of mutation was seen in 36 patients (90) but not in 4 cases (10).

The fourth mutation on exon 5 is, insertion of thimine base on codone 67389650. This type of mutation was seen in 39 patients (97.5) but not in 1 case (2.5).

There were two different mutation areas on exon 8. The first one was, the presence of cytosine instead of adenine base in the normal position on the codone 78378222. This interchange was determined in 32 patinents (85) with cholangiocarsinoma. The base was in the normal position in 8 cases.

The second mutation on exon 8 was, the presence of adenine base instead of guanine base in the normal position on the codone 35659787. This interchange was determined in 32 patinents (85) with cholangiocarsinom In 8 cases adednine base was in the normal position.

Conclusions: We investigated p53 gene mutation in gallbladder fluid of the patients with cholangiocarsinoma and found out undetermined mutations on exon 8 previously. These mutation areas were undetermined in previous studies. These outcames can be related with living in different regions, having different genomic properties or exposing different mutagenes.

These mutations can enforce the diagnosis as a criteria, although it wouldn't be satisfactory in clinical usage.

Keyword: Cholangiocarcinoma, p 53 gen mutation, ERCP

KAYNAKLAR

- 1- Friedman A, Dachman A. Radiology of the Liver, Biliary Tract and Pancreas, Mosby 1994; 335-403
- 2- Warmick R, Williams P.L. Gray's Anatomy, Philadelphia, W.B.Saunders 1976; 1256-1258
- 3- Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, Taylor- Robinson SD. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 366: 1303-14, 2005.
- 4- Strasberg SM, Drebin JA. Tumors of the biliary tree cholangiocarcinoma. Textbook of gastroenterology. Yamada T, Alpers DH, Laine L et al.(eds). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1999; chapter 101; pp:2201-2218.
- 5- Anderson CD, Pinson CW, Berlin J, Chari RS. Diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma. *The Oncologist* 9: 43-57, 2004.
- 6- Üstündağ Y, Bayraktar Y. Cholangiocarcinoma: A compact review literature. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6458-66.
- 7- Weber A, Schmid RM, Prinz C. Diagnostic approaches for cholangiocarcinoma . *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4131-36.
- 8- Tajiri T, Yoshida H, Mamada Y, Taniai N, Yokomuro S, Mizuguchi Y. Diagnosis and initial management of cholangiocarcinoma with obstructive jaundice. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3000-05.
- 9- Mohamadnejad M, DeWitt JM, Sherman S, LeBlanc JK. Role of EUS for preoperative evaluation of cholangiocarcinoma: a large single-center experience. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 71-8
- 10- *Liver Cancer Study Group of Japan*. The general rules for clinical and pathological study of primary liver cancer. Tokyo, 4th edition, Kanehara publication 2000.
- 11- Hulcrantz R, Olsson R, Danielsson A, et al. A 3-year prospective study on serum tumor markers used for detecting cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 1999; 30: 669-73.
- 12- Bjornsson E, Kilander A, Olsson R. CA 19-9 and CEA are unreliable markers for cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis. *Liver* 1999;19:501-8.
- 13- Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, Taylor-Robinson SD. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303–14.
- 14- Seven G, Karayalçın S. Kolanjiokarsinomlar. *Güncel Gastroenteroloji* 2009; 13: 56-64.
- 15- Aljiffry M, Walsh MJ, Molinari M. Advances in diagnosis, treatment and palliation of cholangiocarcinoma: 1990-2009. *World J Gastroenterol* 2009; 14; 15: 4240-62.

- 16- Levy C, Lymp J, Angulo P, et al. The value of serum CA 19-9 in predicting cholangiocarcinomas in patients with primary sclerosing cholangitis. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 1734-40
- 17- Zhang Y, Uchida M, Abe T, Nishimura H, Hayabuchi N, Nakashima Y. Intrahepatic peripheral cholangiocarcinoma: comparison of dynamic CT and dynamic MRI. *J Comput Assist Tomogr* 1999; 23: 670-77.
- 18- Kim TK, Choi BI, Han JK, Jang HJ, Cho SG, Han MC. Peripheral cholangiocarcinoma of the liver: two-phase spiral CT findings. *Radiology* 1997; 204: 539-43
- 19- Rösch T, Meining A, Frühmorgen S, Zillinger C, Schusdziarra V, Hellerhoff K, Classen M, Helmberger H. A prospective comparison of the diagnostic accuracy of ERCP, MRCP, CT, and EUS in biliary strictures. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 870- 6
- 20- Chikamoto A, Tsuji T, Takamori H, Kanemitsu K, Uozumi H, Yamashita Y, Baba H. The diagnostic efficacy of FDG-PET in the local recurrence of hilar bile duct cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13: 403-8.
- 21- Kim HJ, Kim MH, Myung SJ, et al. A new strategy for the application of CA 19-9 in the differentiation of pancreaticobiliary cancer: Analysis using a receiver operating characteristic curve. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1941-6.
- 22- Ramage JK, Donaghy A, Farrant JM, et al. Serum tumor markers for the diagnosis of cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 1995;108:865-9.
- 23- Manfredi R, Barbaro B, Masselli G, et al. Magnetic resonance imaging of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004;24:155-64.
- 24- Abu-Hamda EM, Baron TH. Endoscopic management of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004;24:165-75.
- 25- Sugiyama M, Hagi H, Atomi Y, Saito M. Diagnosis of portal venous invasion by pancreatobiliary carcinoma: value of endoscopic ultrasonography. *Abdom Imaging* 1997;22:434-8
- 26- Keiding S, Hansen SB, Rasmussen HH, et al. Detection of cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis by positron emission tomography. *Hepatology* 1998; 28:700-6.
- 27- Pelsang RE, Johlin FC. A percutaneous biopsy technique for patients with suspected biliary or pancreatic cancer without a radiographic mass. *Abdom Imaging* 1997;22:307-10.
- 28- Khan SA, Thomas HC, Toledano MB, Cox IJ, Taylor-Robinson SD. p53 mutations in human cholangiocarcinoma: a review. *Liver International* 25: 704-16, 2005.
- 29- Ohashi K, Nakajima Y, Kanehiro H, et al. Ki-Ras mutations and p53 protein expression in intrahepatic cholangiocarcinomas: Relation to gross tumor morphology. *Gastroenterology* 109:1612-7, 1995.

- 30- Khan SA, Davidson BR, Goldin R, Pereira SP, Rosenberg WMC, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: consensus document. *Gut* 51(suppl): vi1-vi9, 2002.
- 31- Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins Pathologic Basis of Disease. 6th Ed., Philadelphia, 1999.
- 32- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD, Molecular Biology of the cell, 3th Ed., Garland Publishing, New york, 1255-1295, 1994.
- 33- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD Molecular Biology of the cell, 3th Ed., Garland Publishing, New york, 865-901, 1994.
- 34- Oren M. Regulation of The p53 Tumor Suppressor Protein. *The Journal of Biological Chemistry*. 51: 36031-36034, 1999.
- 35- Nigro MJ, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, Bigner SH, Davidson N, Baylin. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature*, 340: 705-707, 1989.
- 36- Ishak KG, Anthony PP, Sobin LH. Histological typing of tumours of the liver. *WHO International Histological Classification of Tumours*. Berlin: Springer Verlag, 1994.
- 37- Shaib Y, El-Serag HB. The epidemiology of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 115–25. Saini S. Imaging of the hepatobiliary tract. *N Engl J Med* 1997; 336: 1889–94.
- 38- Han JK, Choi BI, Kim AY, An SK, Lee JW, Kim TK, Kim SW. Cholangiocarcinoma: pictorial essay of CT and cholangiographic findings. *Radiographics* 2002; 22: 173-187.
- 39- Diamantis, I., Karamitopoulou, E., Perentes, E. And Zimmermann, A., p53 protein immunoreactivity in extrahepatic bile duct and gallbladder cancer: correlation with tumor grade and survival. *Hepatology*, 22, 774–779. 1995
- 40- Harris, C.C. And Hollstein, M., Clinical implications of the p53 tumor suppressor gene. *New Engl. J. Med.*, 329, 1318–1327 (1993).
- 41- Kiba, T., Tsuda, H., Parojkul, C., Inoue, S., Sugimura, T. And Hirohashi S., Mutations of the p53 tumor suppressor gene and the ras gene family in intrahepatic cholangiocellular carcinomas in Japan and Thailand. *Mol. Carcinogen.*, 8, 312–318 (1993).
- 42- Yamaguchi K, Nakano K, Nagai E, Chijiwa K, Kinoshita M, Ohta M, Tanaka M. K-ras mutations in codon 12 and p53 mutations (biomarkers) and cytology in bile in patients with hepatobiliary-pancreatic carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 63-713-8. (2005)
- 43- C. Y. Ponsioen¹, S. M. E. Vroenenraets¹, A. M. M. van Milligen de Wit², P. Sturm³, M. Tascilar³, G. J. A. Offerhaus³, M. Prins⁴, K. Huibregtse¹, G. N. J. Tytgat¹ Value of Brush Cytology for Dominant Strictures in Primary Sclerosing Cholangitis Endoscopy 1999; 31(4): 305-309

- 44- Xiao-Fang Liu, Hao Zhang, Shi-Guang Zhu, Xian-Ting Zhou, Hai-Long Su, Zheng Xu, Shao-Jun Li Correlation of p53 gene mutation and expression of P53 protein in cholangiocarcinoma *World J Gastroenterol* 2006 August 7;12(29): 4706-4709
- 45- Liu XF, Zhang H, Zhu SG, Zhou XT, Su HL, Xu Z, Li SJ, Correlation of p53 gene mutation and expression of P53 protein in cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol*. 2006 Aug 7;12(29):4706
- 46- Tada, M., Yokosuka, O., Omata, M., Ohto, M. And Isono, K., Analysis Of *ras* gene mutations in biliary and pancreatic tumors by polymerase chain reaction and direct sequencing. *Cancer*, 66, 930–935 (1990).
- 47- Teh, M., Wee, A. and Raju, G.C., An immunohistochemical study of p53 protein in gallbladder and extrahepatic bile duct/ampullary carcinoma. *Cancer*, 74, 1542–1545 (1994).
- 48- Washington, K. And Gottfried, M.R., Expression of *p53* in adenocarcinoma of the gallbladder and bile ducts. *Liver*, 16, 99–104 (1996).
- 49- Watanabe, M., Asaka, M., Tanaka, J., Kurosawa, M., Kasai, M. And Miyazaki, T., Point mutation of *K-ras* gene codon 12 in biliary tract tumors. *Gastroenterology*, 107, 1147–1153 (1994).
- 50- S O'Mahony, M Longfellow, M J McMahon, A T R Axon, P Quirke. Detection of c-Ki-ras mutations in bile samples from patients with pancreatic and biliary cancers. *Clin Pathol: Mol Pathol* 1995;48:M316-M318).
- 51- Guo-Xiong Zhou, Jie-Fei Huang, Zhao-Shen Li, Guo-Ming Xu, Feng Liu, Hong Zhang. Detection of K-ras point mutation and telomerase activity during endoscopic retrograde cholangiopancreatography in diagnosis of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2004 May 1; 10(9):1337-1340.
- 52- Mori N, Wada M, Yokota J, Terede M, Okada M, Teramura M, Masuda M, Motoji T. Mutations of the p53 tumor suppressor gene in hematologic neoplasms. *British Journal Haematology*, 81: 235-240, 1992.
- 53- Hashimoto H., Sue Y, Saga Y, Tokumitsu M, Yachiku S. Roles of p53 and mdm2 in tumor proliferation determination of the prognosis of transitional cell carcinoma of the renal pelvis and ureter. *Journal of urology*, 7: 457-463, 2000
- 54- Tannapfel A, Wasner M, Krause K, Geissler F, Katalinic A, Hauss J, Mössner J, Engeland K, Wittekind C. Expression of p73 and its relation to histopathology and prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 91:1154-1158, 1999.
- 55- Zwahlen D, Mario P, Tobias J, Grob J, Cajot F, Martin F, Fink D, Tobler Aebi S. Differential expression of p73 splice variants protein in benign malignant ovarian tumours. *Cancer*. 88: 66-70, 2000.
- 56- Tannapfel A, Engeland K, Weinans L, Katalinic A, Hauss J, Mössner J, Wittekind Ch. Expression of p73, a novel protein related to the p53 tumor suppressor p53, and apoptosis in cholangiocellular carcinoma of liver. *British Journal of Cancer*. 80:1069-1074, 1999.

- 57- Nylander K, Cotaes JP, Hall A. Characterization of the expression pattern P63 and p53 in benign and malignant oral epithelial lesions. *Cancer*, 87:368-372, 2000.
- 58- Hamada K, Koyama T, Shimizu K, Ikawa S, Kawate S, Yokota J, Ohwada S, Morishita Y. Absence of p51 mutation in human hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 148: 161-164, 2000.
- 59- Park JB, Lee JS, Kim J, Lee HC, Park JH. Frequent alteration p63 expression in human primary bladder carcinomas. *Cancer*, 60:3370-3374, 2000.
- 60- Diez M, Medrano M, Mugüerza MJ, Ramos P, Hernandez P, Villeta R, Martin A, Nogueras F, Ruiz A, Granell J. Influence of tumor localization on prognostic value of p53 protein in colorectal adenocarcinomas, *Anticancer*, 20:3907-3912, 2000.
- 61- Porter PL, Gown AM, Kramp SG, Coltrera MD. Widespread p53 overexpression in human malignant tumors, *American Journal of Pathology*, 140:145-153, 1992.
- 62- Veloso M, Wrba F, Kaseser K, Heinze G, Magalhaes A, Herbst BT. P53 gene status and expression of p53, mdm2, and p21Waf1/Cip1 proteins in colorectal cancer. *Virchows Arch*, 437:241-247, 2000.
- 63- Giatromanolaki A, Sivridis E, Stathopolous GP, Fountzilias G, Kalafonos HP, Tsamandas A, Vrettou E, Scopa C, Polychronidis A, Simopoulos K, Koukourakis M. Bax protein expression in colorectal cancer: association with p53, bcl-2 and patterns of relaps. *Anticancer*, 21:253-260,2001.
- 64- Hensel H, Hau X, Alan Ysakaguchi Y, Naylor LS. Use of the single strand conformation polymorphism technique and PCR to detect p53 gene mutations in small cell lung cancer. *Science*, 249:912-915, 1990.
- 65- Bertheau P, Steinberg SM, Merino MJ. C-erbB-2, p53, and nm23 gene product expression in breast cancer in young women. *Human Pathology*, 29:323-329, 1998.
- 66- Porter PL, Gown AM, Kramp SG, Coltrera MD. Widespread p53 overexpression in human malignant tumors, *American Journal of Pathology*, 140:145-153, 1992.
- 67- Mori N, Wada M, Yokota J, Terede M, Okada M, Teramura M, Masuda M. Motoji T. Mutations of the p53 tumor suppressor gene in hematologic neoplasms. *British Journal Haematology*, 81: 235-240, 1992.
- 68- Rodrigezc MA, Ford RJ, Goodarce A, Selvanayagam P, Cabanillas F, Deisseroth AB. Chromosome 17p and p53 changes in lymphoma. *British Journal Haematology*, 79: 575-582, 1991.
- 69- Foutch PG, Kerr DM, Harlan JR, Manne RK, Kummert TD, Sanowski RA. Endoscopic retrograde wire-guided brush cytology for diagnosis of patients with malignant obstruction of the bile duct. *Am J Gastroenterol*. 1990;85:791-795.
- 70- Foutch PG. Diagnosis of cancer by cytologic methods performed during ERCP. *Gastrointest Endosc*. 1994;40:249-252.
- 71- Jailwala J, Fogel EL, Sherman S, et al. Triple-tissue sampling at ERCP in malignant biliary obstruction. *Gastrointest Endosc*. 2000;51:383-390.

- 72- Bardales RH, Stanley MW, Simpson DD, et al. Diagnostic value of brush cytology in the diagnosis of duodenal, biliary, and ampullary neoplasms. *Am J Clin Pathol.* 1998;109:540–548.
- 73- de Bellis M, Sherman S, Fogel EL, et al. Tissue sampling at ERCP in suspected malignant biliary strictures (Part 2) *Gastrointest Endosc.* 2002;56:720–730.
- 74- Glasbrenner B, Ardan M, Boeck W, Preclik G, Moller P, Adler G. Prospective evaluation of brush cytology of biliary strictures during endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Endoscopy.* 1999;31:712–717.
- 75- Farrell RJ, Jain AK, Brandwein SL, Wang H, Chuttani R, Pleskow DK. The combination of stricture dilation, endoscopic needle aspiration, and biliary brushings significantly improves diagnostic yield from malignant bile duct strictures. *Gastrointest Endosc.* 2001;54:587–594.
- 76- Fogel EL, deBellis M, McHenry L, et al. Effectiveness of a new long cytology brush in the evaluation of malignant biliary obstruction: a prospective study. *Gastrointest Endosc.* 2006;63:71–77.
- 77- Lee JG, Leung JW, Cotton PB, Layfield LJ, Mannon PJ. Diagnostic utility of K-ras mutational analysis on bile obtained by endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Gastrointest Endosc.* 1995;42:317–320.
- 78- Sturm PD, Rauws EA, Hruban RH, et al. Clinical value of K-ras codon 12 analysis and endobiliary brush cytology for the diagnosis of malignant extrahepatic bile duct stenosis. *Clin Cancer Res.* 1999;5:629–635.
- 79- Van Laethem JL, Bourgeois V, Parma J, et al. Relative contribution of Ki-ras gene analysis and brush cytology during ERCP for the diagnosis of biliary and pancreatic diseases. *Gastrointest Endosc.* 1998;47:479–485.
- 80- Levi S, Urbano-Ispizua A, Gill R, et al. Multiple K-ras codon 12 mutations in cholangiocarcinomas demonstrated with a sensitive polymerase chain reaction technique. *Cancer Res.* 1991;51:3497–3502.