

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KOLON ADENOKARSİNOMLARINDA KRAS MUTASYONU
GÖRÜLME SIKLIĞI VE LENF NODU METASTAZI İLE
İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Gökhan VARLI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İbrahim Hanifi ÖZERCAN**

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. İbrahim H. ÖZERCAN

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İbrahim H. ÖZERCAN _____

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Eşime ve aileme...

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve tezimi hazırlamamda emeğini ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. İbrahim Hanifi ÖZERCAN'a, Anabilim Dalımız öğretim üyeleri Doç. Dr. Adile Ferda DAĞLI'ya, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Mustafa AKIN'a, Yrd. Doç. Dr. Özlem ÜÇER'e, Yrd. Doç. Dr. Gökhan ARTAŞ'a, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Ebru ÖNALAN'a ve birlikte güzel ve zor günleri paylaştığım asistan arkadaşım Dr. Sercan ŞİMŞEK'e, Uzm. Dr. Ahmet KILIÇARSLAN'a, her konuda bana yardımcı olan laboratuvar ve büro çalışanlarına, ailemden başta eşim olmak üzere anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz sevgi, saygı ve şükranlarımı sunarım.

ÖZET

Gastrointestinal sistemin en yaygın malignitesi olan kolon kanserleri mortalite ve morbiditenin ana nedenlerinden biridir.

Kolorektal kanser tedavisinde en son varılan nokta EGFR hedefli ajanların kullanılmasıdır. Tedaviye ilişkin kararlarda RAS mutasyon durumu dikkate değer bir role sahiptir. Kanserlerdeki RAS mutasyonlarının %90'ı KRAS geninde ortaya çıkar. KRAS mutasyonlarının çoğu kodon 12, 13, 59 ve 61'de tanımlanmıştır. KRAS geninin 12. ve 13. kodonunda mutasyon olması durumunda EGFR'yi hedefleyen ajanların tedavisine yanıt vermedikleri, KRAS geni wild tip olanların ise tedaviye uygun adaylar olduğu bilinmektedir. Kolorektal kanserlerin %30-40'ında KRAS gen mutasyonu izlediğinden tedaviye başlamadan önce mutasyon taraması önemlidir.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden seçilen 60 adet lenf nodu metastazlı ve 60 adet lenf nodu metastazı olmayan toplam 120 adet orta derecede diferansiye kolon adenokarsinomu örneği alınmıştır.

Çalışmamızda lenf nodu metastazı olmayan olgularda %35 (21/60), lenf nodu metastazlı olgularda %40 (24/60) olmak üzere tüm olgularda %37.5 (45/120) oranında KRAS mutasyonu olduğu görüldü. KRAS mutasyon oranı lenf nodu metastazlı olgularda lenf nodu metastazı olmayan olgulara göre daha yüksek görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Tüm olguların %33.3'ünde kodon 12'de, %4.1'inde kodon 13'de, lenf nodu metastazı olmayan olguların %30'ü kodon 12'de, %5'i kodon 13'de, lenf nodu metastazlı olguların %36.6'sı kodon 12'de, %3.3'ü kodon 13'de KRAS mutasyonu izlendi. KRAS kodon 12 ve kodon 13 mutasyon dağılımı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$). KRAS kodon 61'de ise mutasyona rastlanmadı. KRAS mutasyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı ve tümör lokalizasyonu arasında anlamlı korelasyon görülmedi ($p>0,05$).

Sonuç olarak; çalışmamızda orta derece diferansiye kolon adenokarsinomlarında %33.3'ünde kodon 12'de ve %4.1'inde kodon 13'de olmak üzere %37.5 oranında KRAS mutasyonu izlendi. KRAS kodon 61'de mutasyona rastlanmadı. KRAS mutasyonu ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı korelasyon bulunmadı.

Anahtar Kelimeler: Kolon adenokarsinom, KRAS, lenf nodu metastazı.

**THE INCIDENCE OF KRAS MUTATION IN COLON ADENOCARCINOMA
AND ASSOCIATION WITH LYMPH NODE METASTASIS
ABSTRACT**

Colon cancer is the most common malignancy of the gastrointestinal tract and one of the main cause of mortality and morbidity.

Latest point reached in the treatment of colorectal cancer is the use of EGFR-targeted agents. RAS mutation status plays a considerable role in decisions about treatment. In cancer, 90% of RAS mutations occur in the KRAS gene. Most of KRAS mutations are described in codon 12, 13, 59 and 61. In case of KRAS gene mutations in codons 12 and 13 they do not respond to the treatment of EGFR-targeted agents, of the wild-type KRAS gene are known to be suitable candidates for the treatment. Mutation screening before starting treatment is important because KRAS gene mutations are seen by 30-40% of colorectal cancers.

A total of 120 moderately differentiated colon adenocarcinoma samples, 60 cases with lymph node metastases and 60 without lymph node metastasis were taken from Firat University Faculty of Medicine Department of Pathology archives.

In our study, KRAS mutation rate was seen by 35% of patients without lymph node metastasis (21/60), 40% with lymph node metastases (24/60) and 37.5% (45/120) in all cases. KRAS mutation rate was higher at patients with lymph node metastasis than without metastases, but there were no statistically significant differences ($p > 0.05$). KRAS mutations were detected as 33.3% of all cases in codon 12, 4.1% in codon 13; at patients without lymph node metastases 30% in codon 12, 5% in 13 codon; at patients with lymph node metastases of 36.6% codons 12 and 3.3% codon 13. There was no statistically significant difference between the groups in terms of distribution of KRAS mutations codon 12 and codon 13 ($p > 0.05$).

In conclusion; In our study, KRAS mutations were observed 37.5% percentage at moderately differentiated adenocarcinomas of the colon, as 33.3% in codon 12, and 4.1% in codon 13. KRAS codon 61 mutation was not observed. There was no significant correlation between lymph node metastases with KRAS mutations.

Keywords: Colon adenocarcinoma, KRAS, lymph node metastasis

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI.....	ii
İTHAF	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kolonun Normal Yapısı ve Gelişimi.....	3
1.1.1. Embriyoloji.....	3
1.1.2. Anatomi	4
1.1.3. Histoloji	7
1.1.4. Fizyoloji.....	9
1.2. Kolon Karsinomları.....	10
1.2.1. Epidemiyoloji	10
1.2.2. Etiyoloji	11
1.2.2.1. Diyet ve Yaşam Tarzı	11
1.2.2.2. Kronik İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı.....	11
1.2.2.3. Öncü Lezyonlar	12
1.2.2.3.1. Aberran Kript Odağı	12
1.2.2.3.2. Adenomlar	12
1.2.2.3.2.1. Tübüler Adenom.....	13
1.2.2.3.2.2. Villöz Adenom	13
1.2.2.3.2.3. Tübülovillöz Adenom.....	14
1.2.2.3.2.4. Yassı (Flat) Adenom.....	14
1.2.2.3.3. Diğer Polipler	14
1.2.2.3.3.1. Serrated Lezyonlar.....	14
1.2.2.3.3.2. Jüvenil Polip	14

1.2.2.3.3.3	Peutz – Jeghers Polipleri.....	15
1.2.2.3.3.4	İnflamatuar Polip (Psödopolip)	15
1.2.2.3.4.	Polipozis Sendromları.....	15
1.2.2.3.4.1	Familyal Adenomatöz Polipozis (FAP).....	15
1.2.2.3.4.2	Lynch Sendromu.....	15
1.2.2.3.4.3	Serrated Polipozis	16
1.2.2.3.4.4	Jüvenil Polipozis Sendromu	16
1.2.2.3.4.5	Peutz – Jeghers Sendromu	17
1.2.2.3.4.6	Cowden Sendromu	17
1.2.2.3.4.7	Cronkhite – Canada Sendromu.....	17
1.2.2.4.	Diğer Nedenler	17
1.2.3.	Genetik Yatkınlık	18
1.2.4.	Kolorektal Karsinogenez ve Moleküler Ara Yollar.....	18
1.2.4.1.	Kromozomal İnstabilite Ara Yolu	18
1.2.4.1.1.	RAS Onkogeni.....	22
1.2.4.1.2.	KRAS Geni.....	22
1.2.4.2.	Mikrosatellit İnstabilite Ara Yolu (MSI).....	23
1.2.4.3.	CpG Ada Metilator Fenotipi Ara Yolu (CIMP)	24
1.2.5.	Lokalizasyon.....	25
1.2.6.	Klinik Özellikler	25
1.2.7.	Makroskopi	26
1.2.8.	Histopatoloji	27
1.2.8.1.	Adenokarsinomların Alt tipleri.....	29
1.2.8.1.1.	Müsinöz Adenokarsinom.....	29
1.2.8.1.2.	Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom.....	29
1.2.8.1.3.	Medüller Karsinom.....	30
1.2.8.1.4.	Serrated Adenokarsinom	30
1.2.8.2.	Adenoskuamöz Karsinom.....	30
1.2.8.3.	Skvamöz Hücreli Karsinom.....	31
1.2.8.4.	İndiferansiye Karsinom	31
1.2.8.5.	Nöroendokrin Tümörler.....	31
1.2.9.	Evreleme	32

1.2.9.1. Tümör İnvazyonu (T)	33
1.2.9.2. Lenf Düğümü Tutulumu (N)	33
1.2.10. Dereceleme	36
1.2.11. Yayılım ve Metastaz	37
1.2.12. Tedavi	38
1.2.12.1. Kolon Rezeksiyonu.....	38
1.2.12.2. Laparoskopik kolektomi	38
1.2.12.3. Metastatik Lezyonların Çıkarılması	38
1.2.12.4. Evrelere Göre Kolon Kanserlerinde Tedavi Yaklaşımı.....	39
1.2.13. Hedefe Yönelik Tedavi Yaklaşımları	39
1.2.13.1. Kolorektal Kanserde Anti-EGFR Tedavi	40
1.2.14. Prognostik Parametreler	42
1.2.14.1. Tümör Evresi	42
1.2.14.2. Histolojik Derece ve Tip.....	42
1.2.14.3. Tümör Lokalizasyonu	43
1.2.14.4. Büyüme Paterni	43
1.2.14.5. Cerrahi Sınırlar	44
1.2.14.6. Lenfatik İnvazyon.....	44
1.2.14.7. Venöz İnvazyon	44
1.2.14.8. Perinöral İnvazyon.....	44
1.2.14.9. Obstrüksiyon ve Perforasyon.....	44
1.2.14.10. İnvaziv Alanın Natürü	45
1.2.14.11. Karsinoembriyojenik Antijen (CEA).....	45
1.2.14.12. Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon	45
1.2.14.13. Peritoneal ve serozal yayılım.....	45
1.3. KRAS Gen Mutasyonunun Önemi.....	45
2. GEREÇ VE YÖNTEM	48
2.1. Çalışma Grubu.....	48
2.2. Mutasyonların Tayininde Kullanılan Gereçler.....	48
2.3. Mutasyonların Tayininde Kullanılan Kimyasallar	49
2.4. Mutasyonların Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	49
2.5. Parafin Bloklardan Dna İzolasyon İşlemi	49

2.5.1.	Kullanılan Solüsyon ve Gereçler	49
2.5.2.	İzolasyon Aşamaları	50
2.5.3.	DNA Konsantrasyonu ve Saflık Derecesinin Ölçülmesi.....	50
2.6.	PZR Çalışması.....	51
2.6.1.	PZR Materyalleri	51
2.6.2.	Mutasyonların Belirlenmesi	51
2.6.2.1.	KRAS Genindeki Ekzon 2 Kodon 12 ve Kodon 13 Mutasyonlarının Tespiti.....	51
2.6.2.2.	KRAS Genindeki Ekzon 3 Kodon 61 Mutasyonlarının Tespiti	51
2.6.2.3.	PZR Kurulması İşlemi	52
2.6.2.4.	PZR Koşulları	52
2.7.	Agaroz Jel Elektroforezi.....	52
2.8.	İstatistik Analizler	53
3.	BULGULAR.....	54
4.	TARTIŞMA	63
5.	KAYNAKLAR	69
6.	ÖZGEÇMİŞ.....	80

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Kolorektal Tümörlerin Histolojik Sınıflaması (WHO 2010)	28
Tablo 2. "Dukes" Evrelemesi	34
Tablo 3. Astler-Coller Evrelemesi	34
Tablo 4. Kolorektal tümörlerde TNM evrelemesi	35
Tablo 5. Kolorektal karsinomların dereceleme sistemi	37
Tablo 6. Kolorektal karsinomlarda prognostik faktörler	43
Tablo 7. KRAS genine ait kodon 12 ve 13 mutasyonlarının tespiti için kullanılan primerler	51
Tablo 8. KRAS genine ait kodon 61 mutasyonlarının tespiti için kullanılan primerler	52
Tablo 9. Olguların klinikopatolojik özelliklerinin dağılımı	55
Tablo 10. Tüm olgularda klinikopatolojik değişkenler ile KRAS mutasyon ilişkisi	59
Tablo 11. Tüm olgularda tümör lokalizasyonu ile KRAS mutasyonu ilişkisi	59
Tablo 12. Gruplar arasında klinikopatolojik değişkenler ile KRAS mutasyon ilişkisi	60
Tablo 13. Gruplar arasında tümör lokalizasyonu ile KRAS mutasyonu ilişkisi	61
Tablo 14. KRAS nokta mutasyonlarının gruplara göre dağılımı	61

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Adenoma-karsinoma sekansı	19
Şekil 2. RAS-MAPK sinyal ara yolu	21
Şekil 3. Kolorektal kanserde anti-EGFR tedavi ve KRAS mutasyonu	41
Şekil 4. Olguların Cinsiyet Dağılımı	54
Şekil 5. Tüm olguların KRAS mutasyon durumu	56
Şekil 6. Gruplar arasında KRAS mutasyon durumu	57
Şekil 7. Gruplar arasında KRAS mutasyon dağılımı	57
Şekil 8. KRAS kodon 12 ve kodon 13 mutasyonu dağılımı	58
Şekil 9. A, Normal KRAS kodon 12. B, KRAS kodon 12 Gly12Asp mutasyonu	62
Şekil 10. KRAS kodon 13 Gly13Asp mutasyonu	62

KISALTMALAR LİSTESİ

AJCC	: Amerikan Kanser Komitesi
APC	: Adenomatosis Poliposis Koli
AKO	: Aberran Kript Odağı
BRAF	: V-RAF Murine Sarcoma Viral Onkogene Homolog B ₁
CEA	: Karsinoembriyjenik Antijen
CpG	: C-phosphate-G
CIMP	: CpG Ada Metilator Fenotipi
EGFR	: Epidermal Growth Faktor Receptor
ERK	: Extracellular Signal Regulated Kinase
DCC	: Deleted in Colorectal Cancer
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FAP	: Familyal Adenomatöz Poliposis
HNPCC	: Herediter Nonpoliposis Kolorektal Kanser
HRAS	: Harvey Rat Sarcoma
GlyAla	: Glisin-Alanin
GlyAsp	: Glisin-Aspartat
GlyCys	: Glisin-Sistein
GlySer	: Glisin-Serin
GlyVal	: Glisin-Valin
GTP	: Guanozin trifosfat
KRAS	: Kirsten Rat Sarcoma
LNM'sız	: Lenf Nodu Metastazı olmayan
LNM'lı	: Lenf Nodu Metastazlı
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase
MEK	: Extracellular Signal Regulated Kinase
MGMT	: O(6)metilguanin-DNA metiltransferaz
MMR	: Mismatch Tamir
MSI	: Mikrosatellit İnstabilite
MSI-H	: Yüksek Mikrosatellit İnstabilite
MSI-L	: Düşük Mikrosatellit İnstabilite
MSS	: Mikrosatellit-stabil

- NRAS** : Neuroblastoma Rat Sarcoma
- PIK3CA** : Phosphatidylinositol-4, 5-Biphosphate 3 Kinase Catalytic Subunit Alpha
- PTEN** : Phosphatase and Tensin Homolog
- PZR** : Polimeraz zincir reaksiyonu
- RAS** : Rat Sarcoma
- RAF** : Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
- SSA/P** : Saplı Serrated Adenom/Polip
- SMAD4** : Mothers Against Decapentaplegic Homolog 4
- TGF- β** : Transforming Growth Faktor- β
- Tm** : Tümör
- TNM** : Primer tümör, Lenf düğümü, Metastaz
- WHO** : Dünya Sağlık Örgütü
- WNT** : Wingless and İntegration 1
- 5-FU** : 5-Flurourasil

1. GİRİŞ

Gastrointestinal sistemin en yaygın malignitesi olan kolon kanserleri mortalite ve morbiditenin ana nedenlerinden biridir (1). Dünyada kolorektal kanserler en sık görülen üçüncü kanser türü olup ölüm nedenleri arasında dördüncü sırada yer almaktadır (2, 3). Erkeklerde akciğer, prostat ve mide karsinomlarından sonra dördüncü, kadınlarda ise meme ve uterin serviks karsinomundan sonra üçüncü sıklıkta görülmektedir (4). Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda yaklaşık 150.000 yeni kolorektal kanser tanısı konulmakta ve yılda yaklaşık 50.000 kişi bu hastalık nedeniyle ölmektedir (5).

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığının yaptığı istatistiklere göre akciğer kanseri, meme kanseri ve mide kanserinden sonra kolorektal kanser 4. sırada yer almaktadır. Sağlık Bakanlığının verilerine göre ülkemizde kolorektal kanser görülme sıklığı %6.2'dir. Hastaların %59'u erkek, %41'i kadındır. Erkek/Kadın oranı 1,44'dür (6).

Gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere oranla daha yüksek insidans oranları gözlenmektedir. Kolorektal kanser vakalarının üçte birinden azı gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkmaktadır. İnsidans oranları Afrika'da ve Japonya dışındaki Asya ülkelerinde göreceli olarak daha düşük olup, Japonya'da Avrupa ile benzer insidansa sahiptir (7). İnsidanslardaki keskin artış Doğu Avrupa ve Japonya'da görülmektedir. İnsidanstaki bu coğrafik farklılıklar temel olarak genetik yatkınlık üzerine eklenen diyet ve çevresel faktörlere bağlanmaktadır (8).

Daha çok ileri yaş grubunu etkileyen kolorektal kanserler, en sık olarak 60 ile 79 yaşları arasında görülmekte insidansı yaşla birlikte artmaktadır. Hastaların ancak %20'sinden azı 50 yaşının altındadır. Kolorektal kanserli genç hastalarda, genetik yatkınlık ve inflamatuvar bağırsak hastalığına bağlı gelişim söz konusudur (1, 9).

Karbonhidrattan zengin işlenmiş ve yağ içeriği (özellikle hayvansal ve doymuş) fazla olan diyet, emilmeyen bitkisel liflerin ve A, C, E vitaminleri gibi koruyucu özelliğe sahip vitaminlerin az tüketimi gibi etkenlerin kolorektal kanser gelişimini tetiklediği düşünülmektedir (10).

Kolorektal karsinomların %98'ini adenokarsinomlar oluşturmaktadır. Büyük çoğunluğu adenomatöz poliplerden gelişmekte olup erken tanı ile tedavide başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir (11).

Kolorektal kanser gelişimi hem genetik hem de çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörler önem sırası ile aile hikâyesi, fiziksel aktivite, inflamatuvar bağırsak hastalığı, obezite, kırmızı et, sigara ve alkoldür (9). Genetik yatkınlık kanser gelişim riskini belirgin olarak artırmakla birlikte kolorektal kanserlerin yalnızca %15'i kalıtsal özellik taşımaktadır (4, 13).

Kolorektal kanserler, bir dizi moleküler olay sonrası ortaya çıkan ve normal mukozadan tek bir kript epitelindeki değişikliklere, küçük iyi huylu tümörlerden (adenomatöz polipler) adenokarsinomlara kadar uzanan bir dizi morfolojik değişimle karakterizedir (12).

Moleküler biyolojideki hızlı gelişmeler hastalıkların fizyopatolojilerinin daha ayrıntılı olarak belirlenmesini sağlamıştır. Birçok tümörde karsinogenetik etkisi olduğu kanıtlanmış olan EGFR (Epidermal Growth Faktor Receptor) aktivasyonu ile başlayan ve kısaca RAS-MAPK (Rat Sarcoma-Mitogen Activated Protein Kinase) yolağı adı verilen fizyolojik yolağın kolorektal adenokarsinomlarda karsinogenezisin başlıca faktörlerinden olduğu ortaya konmuştur.

Kolorektal tümörlerin oluşumunda RAS gen mutasyonlarının başlatıcı rolü olduğu düşünülmüş, RAS gen mutasyonlu adenomların, RAS gen mutasyonsuz adenomlara göre daha hızlı ilerleyerek kansere yol açtığı görülmüştür (14). Kolorektal karsinomların bireysel tedavisi de bu molekülerin kullanılması esasına dayanmaktadır. KRAS (Kirsten Rat Sarcoma) bu moleküllerin en güzel örneği ve onkogen olup, EGFR'yi hedefleyen ajanların tedavi etkinliğini belirlemek için kullanılmaktadır.

Kolorektal kanserlerde en sık görülen mutasyonların KRAS geninin 12. ve 13. kodonları üzerinde olduğu bilinmektedir. Kodon 12, 13 ve 61' deki mutasyonlar; RAS protoonkogenlerin onkogenlere dönüşmesine ve sonuçta otonom hücre büyümesine ve çoğalmasına neden olur (14). KRAS geninin 12. ve 13. kodonunda mutasyon olması durumunda EGFR'yi hedefleyen ajanların tedavisine yanıt vermedikleri faz 3 çalışmalarında gösterilmiştir (15).

İnsanlarda görülen tüm tümörlerin %17-25'inde kolorektal kanserlerin ise %30-40'ında KRAS gen mutasyonu bulunduğundan tedaviye başlamadan önce mutasyon taraması önemlidir (15, 16).

Bu çalışmadaki amacımız orta derece diferansiye kolon adenokarsinomlarında KRAS kodon 12, 13, 61 mutasyon durumunu belirlemek ve bu mutasyonların lenf nodu metastazı ile ilişkisini araştırmaktır.

1.1. Kolonun Normal Yapısı ve Gelişimi

1.1.1. Embriyoloji

Embriyo, erken dönemlerde öncül germ yaprakları olan ektoderm, mezoderm ve endodermden oluşan üç tabakalı yassı disk şeklindedir. Endodermlle kaplı ventral yüzeyi vitellus kesesiyle ilişkilidir. Sonraki dönemlerde, lateral ve sefalokaudal yöndeki katlantılar, embriyo boyunca uzanan uzun silindirik şekilde endodermal tüpü oluşturur. Bu tüpten primitif bağırsak tüpü gelişir ve bu tüp ön bağırsak (foregut), orta bağırsak (midgut) ve arka bağırsak (hindgut) olarak farklılaşır (17, 18). Mide embriyonel gelişimin 4. haftasında foregut distal bölümünde fuziform bir genişleme şeklinde belirir. Midgut, duodenum distal bölümü ile ince bağırsaklar ve kolonun sağ yarısını oluşturur. Beşinci haftada yolk sak ile arasındaki bağlantı dar bir duktus (duktus omfalomezenterikus) ile olur. Midgut ventralinde, yolk salkın hemen posteriorundaki şişlik çekumun yerini belirleyerek ince ve kalın bağırsak arasındaki sınır ortaya çıkar. Başlangıçta orta bağırsak kısa mezenter ile posterior abdominal duvara tutunmuştur ve orta bağırsağın gelişimi ile mezenter de uzar (18).

Fetal abdominal kavite hızla büyüyen bağırsaklara küçük gelmeye başlar ve karın içi basınç artar. Altıncı haftada midgut, ortada duktus omfalomezenterikus olmak üzere hızla büyüyerek umbilikal kord içine herniye olur (fizyolojik herniasyon). Midgutun kranial ve kaudal bacakları mezenterin iki bandı ile posterior abdominal duvara tutunmuştur. Bu bantlar sayesinde foregut ve hindgutun ekstraembriyonik çöloma herniye olması engellenmektedir. Bağırsaklar 10. haftada, karın boşluğuna geri dönmeye başlarlar. Orta bağırsak bu sırada kan damarları etrafında saatin tersi yönünde 270 derecelik bir dönüş yapar. Arka bağırsaktan, transvers kolonun 1/3 distalinden anal kanalın üst kısmına kadar olan bağırsaklar gelişir (anal kanalın distal parçası ektodermal anal çukurdan gelişir). Arka bağırsağın kaudal kısmı, ürektal septum tarafından arkada rektum ve anal kanal; önde de mesane ve üretra olacak şekilde ikiye bölünür (18, 19).

1.1.2. Anatomi

Kalın bağırsak ileoçekal valvden anüse kadar uzanır ve yaklaşık 150 cm uzunluğundadır. Bölümlerine göre çapı 2-8 cm arasında değişir. Gastrointestinal sistem uzunluğun yaklaşık 1/5'ini oluşturur. Kalın bağırsaklar sağ fossa iliyakadan başlar ve ince bağırsağın etrafında bir çerçeve yaparak pelvis boşluğu içinde rektumun çıkış deliği olan anüste sonlanır. Sağ fossa iliyaka dekstradan başlayan kalın bağırsak, karın boşluğunun sağ tarafından yukarı çıkarak karaciğerin altına gelir. Burada fleksura koli dekstra adı verilen bir büklümle kıvrılarak sola doğru ilerler. Konveksliği aşağıya ve öne bakan bir kavisle yatay olarak regio hipokondrika sinistraya ulaşır. Dalağın altında fleksura koli sinistrayı yaparak karın boşluğunun sol tarafı boyunca aşağı iner. İnen bölüm, çıkan bölüme göre daha derinde olduğundan ince bağırsak kıvrımları ile örtülüdür. Sol fossa iliakaya gelince pelvis içinde "S" harfi gibi kıvrım yapar. Pelvis boşluğunda sakrumun ön yüzü ile komşuluk yaparak koksigeal kemik önünde anüs ile sonlanır (20).

Kalın bağırsaklar periton içinde ve retroperitoneal alanda karaciğer, dalak, mide, duodenum, ince bağırsaklar, böbrekler, üreterler ve mesane gibi çok sayıda organla komşuluk gösterir (21). Kalın bağırsak ile ince bağırsak arasındaki geçiş yerinde olan kapağa, bouhin kapağı veya ileoçekal valv denir. Bu kapak alt ve üst dudaktan oluşur. Dudaklar çift kat mukoza ve sirküler kas liflerinden meydana gelmiştir. Bu kapak bir sfinkter vazifesi görerek ince bağırsaktan kalın bağırsağa içeriğin hızlı boşalması ve reflüye engel olur (22).

Kalın bağırsak duvarında ince bağırsaklardan farklı olarak longitudinal kas liflerinin sıkıca bir araya gelmesiyle tenyalar, subserozal yağ doku ceplerinin üzüm şeklinde çıkıntı yapmasıyla oluşan apendiks epiploikalar ve sirküler kas liflerinin oluşturduğu fonksiyonel ceplenmeler (haustralar) bulunmaktadır (21).

Tenya kolilerin kalınlığı 1 mm, genişliği 6-10 mm arasında olup yerleşim yerlerine göre tenya libera, tenya mezokolika ve tenya omentalis olarak adlandırılırlar. Üçü de apendiks vermiformisin çekum ile birleşim yerinden başlar. Tenya libera, kalın bağırsağın tüm bölümlerinde ön yüzde bulunur. Tenya mezokolika, çıkan ve inen kolonda arka yüzün iç kenarında, transvers kolonun arka yüzünün alt tarafında bulunur. Tenya omentalis, çıkan ve inen kolonda arka yüzün dış kenarında, transvers kolonun arka yüzünün üst tarafında bulunur. Sigmoid kolonda sadece iki tane tenya

bulunur. Rektuma yaklaşıkça tenya yapılarının ayırt edilmesi zorlaşır ve rektumda longitüdünel kas lifleri arasına uzanarak kaybolur (20).

Tenya koli uzunluğunun kalın bağırsağın uzunluğundan kısa olması nedeniyle tenyalar arasında haustra koli adı verilen boğumlar oluşur. Haustralarda kolon duvarı yarım plikaları (plika semilunares) adı verilen lümeneye doğru hilal şeklinde uzantılar verir. Bu plikalar ince bağırsaklarda olduğu gibi tam bir daire şeklinde olmayıp sadece kalın bağırsağın bir bölümünde bulunurlar (20, 21).

Kalın bağırsağın dış yüzeyinde tenya libera boyunca sıralanmış apendiks epiploika (omentalis) adını alan çıkıntılar bulunur. Bu oluşumlar 0,5-1 cm çaplı yağ kitlelerinin periton ile sarılı uzantılarıdır. En çok transvers kolonda bulunurken çekum ve rektumda bulunmazlar (20).

Kalın bağırsak çekum, kolon (ıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon) ve rektum olmak üzere 3 bölüme ayrılmıştır (20, 21).

Çekum, ileoçekal valvin distalinde, aşağıya doğru bir çıkıntı yapan kalın bağırsağın kese biçimindeki başlangıç kısmıdır (20). İnsanların yaklaşık %95'inde intraperitonealdir. Uzunluğu 4-8 cm, çapı yaklaşık 7-8 cm olup kolonun en geniş kısmıdır (22). Çekum arkada iliyakus ve psoas majör kasının üzerinde bulunur (20). Çekum geniş çapa sahip olması ve duvarının ince olması nedeni ile intestinal obstrüksiyonlarda kolonun en sık perforasyon olan kısmıdır (21, 22). Çekumun arterleri, A. mezenterika süperiorun bir dalı olan A. ileokolikanın A. ekalis anterior ile A. ekalis posterior ve dallarıdır. Venleri de aynı isme sahip olup arterlerin yanında yer alır ve V. mezenterika süperiora drene olur. İnnervasyonu süperior mezenterik pleksustan gelen sempatik ve parasempatik (N. vagus) dallar ile olur. Çekumun lenfatik drenajı ileokolik lenf bezleri ve süperior mezenterik bezlerine olur (21, 22).

ıkan kolon, çekumun üst kenarından başlayıp karın boşluğunun yan bölümünde yukarıya ve arkaya doğru yükselerek karaciğerin alt yüzüne gelir. Karaciğer sağ lobunun alt yüzeyinde fleksura koli dekstrayı yaparak sola kıvrılır ve transvers kolon adını alır (20). Uzunluğu yaklaşık 15-20 cm olup çapı çekumdan dardır (22). ıkan kolon arkada kuadratus lumborum kası ve sağ böbreğin alt kısmı ile önde ileum kıvrımları, omentum majusun sağ kenarı ve karın duvarı ile komşudur ve ön ve yan yüzleri peritonla örtülüdür (20, 23, 24). Arka duvarı gevşek bağ dokusu ile karın arka duvarına tutunmuştur ve arka yüzü bazen peritonla örtülü olabilir (23,

24). Çıkan kolonun arterleri A. mezenterika süperiorun dalları olan A. kolika dekstradır. Venleri de aynı isme sahip olup arterlerin yanında seyreder ve V. mezenterika süperiora drene olur. İnnervasyonu çölyak ve süperior mezenterik gangliyonlardan gelen sempatik ve parasempatik (N. vagus) dallar ile gerçekleşir. Lenfatik drenajı kolika dekstra lenf düğüm aracılığı ile süperior mezenterik lenf bezine olur (20, 22).

Transvers kolon, kolonun en uzun kısmı olup ortalama 45 cm uzunluğundadır. Hepatik fleksuradan başlayıp sola doğru uzanarak dalağın alt yüzüne gelip splenik fleksurayı oluşturur ve aşağıya doğru konveks bir kavis yaparak umblikal ve sol hipokondriyak bölgeyi çaprazlayarak geçer. Dalağın alt ucundan aşağıya doğru bükülüp splenik fleksurayı oluşturur. Pankreas başından splenik fleksuraya kadar tamamı peritonla örtülüdür ve mezokolon ile karın arka duvarına tutunur (20, 23, 24). Transvers kolonun esas arteri A. kolika media olup sağ tarafı A. kolika dekstradan, sol tarafı A. kolika sinistradan beslenir. A. kolika media ve A. kolika dekstra A. mezenterika süperiorun, A. kolika sinistra ise A. mezenterika inferiorun dalıdır. Venöz dönüş ise middle kolik ven ile superior mezenterik vene doğrudur. A. mezenterika süperiorun beslediği alanlar süperior mezenterik pleksus ile A. mezenterika inferiorun beslediği alanlar ise inferior mezenterik pleksus ile innerve olur. Transvers kolonun proksimal 2/3 kısmının lenfatik drenajı kolika media lenfatik düğüm aracılığıyla süperior mezenterik lenf bezine, distal 1/3 kısmının ise inferior mezenterik lenf bezine olur (20, 22).

İnen kolon, splenik fleksuradan sol krista iliyakaya kadar uzanır. Ortalama 25 cm uzunluğunda ve 3 cm genişliğindedir. Kolonun en dar lümene ve en kalın kas tabakasına sahip kısmıdır. Sol böbreğin dış kenarını izleyerek psoas majör ve kuadratus lumborum kası arasından krista iliyakaya kadar inerek küçük pelvis girişinde sigmoid kolonla sonlanır. Ön ve her iki yan yüzü periton ile örtülü olan inen kolonun arka yüzü gevşek bağ dokusu ile karın arka duvarına yapışır (20, 23, 24). İnen kolonun arterleri A. mezenterika inferiorun dallarıdır. Büyük bir kısmı A. kolika sinistradan, aşağıda kalan son kısımları A. sigmoideadan kanlanır. Venleri de aynı isme sahip olup V. mezenterika inferiora dökülür. İnnervasyonu inferior mezenterik pleksus ile gerçekleşir. Lenfatik drenajı kolika sinistra lenf düğüm aracılığı ile inferior mezenterik lenf bezine olur (20).

Sigmoid kolon, inen kolonun sol krista iliyaka seviyesinde pelvise doğru kıvrılması ile başlar ve üçüncü sakral vertebra seviyesinde rektumda sonlanır. “S” harfi şeklinde kıvrım gösteren kolonun bu segmentinin ortalama uzunluğu 30-40 cm, çapı 5-6 cm’dir (20, 22). Tamamen peritonla sarılı ve uzunluğu değişebilen mezokolonu olup intraperitoneal yerleşimlidir (22). Sigmoid kolonun arterleri A. mezenterika inferiorun dalı olan A. sigmoideadır. Venleri de aynı isme sahip olup arterlerin yanında bulunur ve portal ven sistemine dökülür. İnnervasyonu inferior hipogastrik pleksusdan gelen sempatik ve parasempatik lifler aracılığı ile gerçekleşir. Lenfatik drenajı sigmoidal lenf düğümü aracılığı ile inferior mezenterik lenf bezine olur (20).

Rektum, kalın bağırsağın son kısmı olup 3. sakral vertebra hizasından başlayıp, sakrum eğilimini takip ederek koksigeal kemiğin 3-4 cm aşağısında anüs ile sonlanır. Uzunluğu 12-15 cm arasındadır. Rektumda haustralar, appendiks epiploikalar, mezenter ve tenyalar yoktur (20). Rektumun 1/3 üst bölümün ön ve yan yüzleri ile 1/3 orta bölümünün ön yüzü peritonla örtülüdür (22). Ön yüzü örten periton mesaneye geçerek erkekte “excavatio rectovezicalis”i, uterusu geçerek kadında “excavatio rectouterina”yı oluşturur. Arka yüzde ise sigmoid kolona kadar retroperitonealdir. Retroperitoneal rektumun önünde ise erkekte mesaneye, kadında vajinaya uzanan Denonvilier fasyası bulunur (24). Anorektal hattın üstünde kalan rektumun kanlanması A. mezenterika superiorun uç dalı olan A. rektalis superior ile aşağısında kalan kısım A. pudenda internanın dalı olan A. rektalis inferior, orta kısmı A. iliyaka internanın dalı olan A. rektalis media ile olur. Ayrıca rektuma A. sakralis mediadan da ince dallar gelir. Venöz dolaşım portokaval anastomoz oluşturması açısından önemlidir. V. rektalis superior V. mezenterika inferiora, V. rektalis media V. iliyaka internaya, V. rektalis inferior ise V. pudenda internaya açılır. İnnervasyon rektum ve anal kanalın üst kısımlarında bulunan superior, inferior ve medial rektal pleksuslar ile gerçekleşir. Parasempatik lifleri ise sakral parasempatik merkezlerden gelir. Lenfatik drenaj inferior mezenterik lenf bezine olur (20).

1.1.3. Histoloji

Kolonun tüm kısımları hemen hemen aynı histolojik özelliğe sahiptir. Bağırsak içeriği boşalmadan önce depolanır ve su, elektrolitler, safra asitleri ve bazı

vitaminler emilir. Aynı zamanda koruyucu ve kayganlaştırıcı mukus salgılar ve besinlerin enzimatik olmayan bakteriyel sindirimini sağlar.

Kolon başlıca tunika mukoza, tunika submukoza, tunika muskularis propria ve tunika seroza olmak üzere dört tabakadan oluşur.

Tunika mukoza; yüzey epiteli, kripta, lamina propria ve lamina muskularis mukozadan oluşur. Kolon mukozası villusdan yoksundur. Yüzey epiteli basit tek sıralı prizmatik veya küboidal epitelle döşeli olup absorbtif hücreler ve goblet hücreleri içerir. Yüzey epiteline açılan Liberkühn kriptleri de matür absorbtif hücreler ve goblet hücreleriyle devamlılık gösterir. Absorbtif hücreler su ve elektrolitleri absorbe ederler. Absorbtif hücreler oval, bazalde yerleşik nükleuslu, eozinofilik ve uniform görünümde hücrelerdir. Goblet hücreleri münin sentezi, depolanması ve salınımından sorumludur. Kolonun goblet hücrelerinin enterositlere oranı kalın bağırsakta ince bağırsaktan daha fazladır. Bu oran çekundan rektuma doğru artar. Yaklaşık 0,5 mm uzunluğundaki derin yerleşimli kriptalar ince bağırsaktakilerden 2 veya 3 kat daha uzundur. Kriptalar, sitoplazmalarında müköz granüller bulunan basit kolumnar epitelle döşeli hücrelere sahiptir. Kriptaların bazaline inildikçe daha az olgunlaşmış hücreler görülür. Lamina propria yüzey epiteli ve muskularis mukoza arasında kalan gevşek bağ doku, sinir uçları ve immun sistem hücrelerinden oluşan katmandır. Başlıca görevi intestinal içerikten sızan zararlılara karşı lokal immün cevabı oluşturmaktır. Fibroblastlar tüm lamina propria boyunca izole hücreler ya da kriptaların yüzeyel bölümünün bazal membrana komşu bir yerinde perikriptal fibroblastlar olarak bulunabilirler. Lenfatikler lamina proprianın alt 1/3'lük bölümünde sınırlıdır. Normalde mevcut olan inflamatuvar hücreler lenfositler, plazma hücreleri, mast hücreleri, eozinofil ve histiyositlerdir. Lamina muskularis mukoza kapillerle ve lenfatiklerle çevrili ince kas ve sinir liflerinden oluşur. Muskularis mukoza, mukozayı daha derin submukozadan ayırır.

Tunika submukoza büyük miktarda adipoz dokunun da yer aldığı, iki nöral pleksus (Meissner ve derin submukozal pleksus), arterioller, venüller ve lenfatikleri içerir.

Tunika muskularis içte sirküler, dışta longitüdüinal kas tabakalarından meydana gelmiştir. Auerbach pleksusu iki kas tabakası arasında uzanır. Dış

longitudinal tabaka lifleri tenya koli denilen üç kalın longitudinal bant halinde toplanmıştır.

Tunika seroza, tek sıralı yassılaştırmış ya da küboidal mezotelyal hücreler ile döşeli peritondan ve fibroelastik dokudan oluşur. Kan damarları ve lenfatikler içerir. Çekum, apendiks, transvers kolon ve sigmoid kolonu tam olarak sarar (intraperitoneal). İnen kolon, çıkan kolon ve rektumun distali ile anal kanal peritonun arkasında kalır (retroperitoneal) (17, 25-27).

1.1.4. Fizyoloji

Kolon sadece sindirim artıklarının deposu ve iletim kanalı özelliğine sahip değildir. Kolonda; su, sodyum, klor ve bazı vitaminler emilirken, mukus ve bikarbonat salgılanır (28, 29). Bunlarda başka semisolid maddelerin depolanması, mikroflora metabolizması ile alınan gıdaların yıkılması, rektum ve anüse doğru feçesin ilerletilmesi gerçekleştirilmektedir. Kalın bağırsağa besinlerin gelmesiyle bağırsak florası tarafından geride kalan karbonhidrat ve protein aerobik ve anaerobik olarak metabolize olur (30). Epitel hücreleri hemen hemen hiç enzim içermeyip sadece mukus salgılayan müköz hücrelerden oluşur. Mukus salınımı motilite arttıkça artar. Mukus feçesteki asit ve bakterilerin etkilerine karşı bariyer vazifesi yaparak bağırsak duvarını korur. Günde yaklaşık 1500 ml kadar kimüs kolona ulaşır. Kolonda kimüsün büyük kısmı emilir ve yaklaşık 100 ml'den azı feçes olarak atılır. Kolonun proksimali absorpsiyon görevi, distali depo görevi yapar. Kolondan günde yaklaşık 5-8 lt. arasında sıvı ve elektrolit emilir. Normalde bağırsakta çok sayıda bakteri bulunur. Bu bakterilerin görevi; K, B2, B12 vitaminlerinin sentezi ile kolon gazlarını üretmektir (31).

Kalın bağırsakta ph 8-8,4 civarındadır. Bunu klorun emilimi karşılığında az miktarda bikarbonatı lümeneye salarak ve ortamı alkali hale getirerek sağlar. Suyun hemen hemen tamamı çekum ve çıkan kolonda emilir. Su ile birlikte sodyum, laktoz ve sakkaroz gibi önemli yapılar da emilir. Bu emilim sonucunda dışkının %70'i su, %30'u katı maddeden oluşur (32).

Kolonda sindirim için temel hareketler meydana gelir. Segmenter kontraksiyonlar en sık gözlenen hareketler olup longitudinal ve sirküler kaslarda spontan olarak meydana gelir. Retrograd hareketler transvers kolondan çekuma doğru ilerleyen dalgalardır. Bu hareketler sayesinde sağ kolonda hareketler

yavaşlatılarak emilim süresi uzatılır. Kitle hareketleri ise en az görülen tip olup uzun bir segmenti kapsar. Kolon içeriği dakikada 0,5-1 cm hızla ilerler.

Kolon motilitesi öfke, korku ve sinirlilik gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Glukagon ve somatostatin inhibitör etki gösterirken kolesistokinin hareketleri uyarıcı etkiye sahiptir (29, 31).

1.2. Kolon Karsinomları

1.2.1. Epidemiyoloji

Kolorektal kanserler dünyada en sık görülen üçüncü kanser türü olup ölüm nedenleri arasında dördüncü sırada yer almaktadır (2, 3). Erkeklerde akciğer, prostat ve mide karsinomlarından sonra dördüncü, kadınlarda ise meme ve uterin serviks karsinomundan sonra üçüncü sıklıkta görülmektedir (4). Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda yaklaşık 150.000 yeni kolorektal kanser tanısı konmakta ve yılda yaklaşık 50.000 kişi bu hastalık nedeniyle ölmektedir (5). Kolorektal karsinomlar endüstriyel ülkelerde yaşamı etkileyen en yaygın neoplazmlardan biridir. Tüm kanser türleri içerisinde yaklaşık %9.7 oranında izlenir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşam süresi boyunca kolorektal karsinom gelişme riski hem kadınlarda hem de erkeklerde %5.5 olup bu hastalıktan ölüm oranı %2'dir (4). Kolorektal karsinomlar Birleşik Devletler, Kanada, Avustralya, Yeni Zelanda, Danimarka, İsveç ve diğer gelişmiş ülkelerde daha yaygın olmakla birlikte tüm dünyada görülür. Hindistan, Güney Amerika ve Afrika'da ise bu ülkelerden 30 kat daha düşük insidansa sahiptir (1, 4). Önceden düşük riskli kabul edilen bölgelerde kolorektal karsinom insidans oranları yükselmektedir. Göçmenler ve soylarından gelenlerde görülme insidansı adapte oldukları toplumlara yaklaşmaktadır. Bu da yaşam tarzı, yemek alışkanlıkları ve diğer çevresel faktörlerin etiyojideki rolüne işaret etmektedir (4).

Daha çok ileri yaş grubunu etkileyen kolorektal kanserler, 50 yaşından sonra artmakta ve 60-79 yaşlarında en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Predispozan faktörler olmadıkça 50 yaş altında kolorektal kanser görülme oranı %20'nin altında gözlenmektedir (33).

Dünya genelinde 2008 yılında 1,2 milyon yeni kolorektal kanser vakası bildirilmiş, buna bağlı olarak 608.700 kişi hayatını kaybetmiştir. 2010 yılında bildirilen 142.600 kolorektal karsinom olgusunun 102.000'i kolon kanseridir (4).

1.2.2. Etiyoloji

Kolorektal karsinomu gelişimde birçok faktör rol oynamaktadır.

1.2.2.1. Diyet ve Yaşam Tarzı

Hayvansal yağlardan zengin, yüksek kalorili besinler ve sedanter yaşam süren toplumlarda kolorektal kanser insidansı yüksek olduğu gözlenmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar kırmızı et tüketimi, obezite, sigara ve alkol tüketiminin birer risk faktörü olduğunu göstermiştir. Diyetle meyve, sebze, tahıl, kalsiyum ve D vitamini bulunması, uzun süre nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullanımı, kadınlarda östrojen replasman tedavisi ve fiziksel aktivite kolorektal karsinom gelişimini önlemektedir (4, 9).

Diyetteki yağ, kolon bakterileri tarafından sekonder safra asitlerine dönüşen primer safra asitlerinin sekresyonunu artırır. Safra asitleri kolon mukozası üzerine prekarsinojenik etki gösterir. Diyet ile meyve, sebze ve lifli gıdaların alınması dışkıının hacimli olmasını, prekarsinojenik safra asitlerinin konsantrasyonunu azalmasını sağlayarak riskin azalması sağlar (34, 35).

Kalsiyum lümen içinde toksinlere bağlanır ve kolon mukozası proliferasyonunu etkiler. Antioksidanların serbest radikalleri nötralize ederek karsinogenezi engellediği düşünülmektedir. Folat ve metionin, nükleotid sentezi ve gen regülasyonu gibi gerekli metil grublarını içerir. Alkol metil alışverişini engeller ve DNA (Deoksiribonükleik asit) tamirini baskılar. Alkol kullanımının kolon kanseri riskini 2-3 kat artırdığı bildirilmiştir (34).

1.2.2.2. Kronik İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı

Özellikle ülseratif koliti olanlarda daha belirgin olmak üzere inflamatuvar bağırsak hastalığı olanlarda risk artmıştır. İnflamatuvar bağırsak hastalığı tanısını 15 yaşından önce almış, pankolitli olgularda 30 yaşından sonra kolorektal karsinom gelişme insidansı %30 olarak bildirilmiştir. Bu hastalarda kolorektal karsinoma bağlı mortalite oranı 20 kat artmıştır. Kolorektumun yarısından fazlasının tutan ülseratif kolitli hastalarda kolorektal kanser gelişme riski %15'dir. Uzun süreli kolit, yaygın

tutulmuş (pankreatik), ailede kolorektal kanser öyküsü olması, primer sklerozan kolanjit ve hastalığın süresi risk artışında önemlidir. Düşük dereceli tübülöglöndüler adenokarsinomlar yalnız ülseratif kolit veya crohn hastalığında görülür ve iyi diferansiye olduğundan tanısı zordur. Sporadik ve ülseratif kolit ilişkili kanserlerdeki moleküler değişiklikler benzer olup sıklığı ve sırası farklıdır. Ülseratif kolit ile ilişkili kanserlerde adenomatozis polipozis koli (APC) gen mutasyonu geç ve TP53 mutasyonu erken dönemde meydana gelir. Yüksek Mikrosatellit instabilite (MSI-H) gösteren kolorektal kanserler siktir (4).

Kolon kanseri crohn hastalığının önemli bir komplikasyonudur. Crohn hastalığında ince ve kalın bağırsakta karsinom riski 3 kat artmıştır. Ülseratif kolitte olduğu gibi hastalığın erken ortaya çıkması ve uzun süreli olması kolorektal kanser riskini arttırmaktadır (4).

1.2.2.3. Öncü Lezyonlar

1.2.2.3.1. Aberran Kript Odağı

Normal kolon mukozasından adenokarsinomaya dönüşümde ortaya çıkan en erken lezyon olarak kabul edilen aberran kript odağı (AKO), kolorektumda epitelyal neoplazinin morfolojik prekürsörüdür (37). AKO'nun adenomatöz (displastik) ve hiperplastik olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Kolorektal adenomların adenomatöz tip AKO'dan geliştikleri, serrated poliplere ise hiperplastik AKO'nun öncülük ettiği düşünülmektedir (38).

Aberran kript odağının kolorektal karsinogenez arasında yer aldığı görüşü birtakım epigenetik ve genetik değişikliklerin (APC, KRAS mutasyonları, p16 geni) saptanması ile desteklenmektedir (39).

1.2.2.3.2. Adenomlar

Adenomlar gerçek neoplastik lezyonlar olup, kolon kanseri gelişimi öncüsüdür. Tek veya çok sayıda olabilirler (36). Adenomlar epitelyal proliferasyon ve proliferasyon epitelde displazi ile karakterizedir (10). Histopatolojik olarak hiperkromatik nükleus, değişken düzeyde nükleer sıralanma, nükleol belirginliği ve polarite kaybı izlenir. Adenomlardaki epitelyal displazi yapısal ve sitolojik özelliklere göre düşük dereceli veya yüksek dereceli olabilir (10).

Adenomatöz bir polipteki malignite riski polibin boyutu, histolojik yapısı ve içerdiği epitelin displazi derecesi ile bağlantılıdır. Malignite riski ile en önemli korelasyon gösteren faktör boyuttur. Adenomların 1 cm'den küçük olanlarında malignite riski oldukça düşükken, 4 cm'den büyüklerde %40 oranında kanser odağı bulunur (1).

Adenomlar tek bir kripte odağında başlarlar ve büyüyerek normal epitelin yerini alırlar. Tek kriptli adenomlar nadirdir ve tipik olarak Familial Adenomatöz Polipozis'li (FAP) hastaları etkilerler. Yeni adenomatöz bezler neoplastik yüzey epitelinin içeri doğru yaptığı girintiler ile oluşur (36).

Adenom riski herediter sendromlu hastalar dışında 40 yaşında keskin bir yükseliş gösterir ve 60-70 yaş civarında pik yapar. Erkeklerde kadınlardan daha sık görülür (36).

Adenomlar morfolojik özelliklerine göre 4 kategoriye ayrılırlar: tübüler, tübülovillöz, villöz ve yassı(flat) adenomlar.

1.2.2.3.2.1 Tübüler Adenom

En sık görülen adenom tipi olup %68-87 oranında izlenirler. Tübüler adenomların büyük bir kısmı kolonda görülmekle birlikte, mide ve ince bağırsakta da görülebilir (36). Yaklaşık yarısı rektosigmoidde yerleşir. Çoğunlukla saplı, düzgün yüzeyli 0,5-1 cm çaplı lezyonlardır. Tübüler adenomlarda kripte tabanındaki displazik olmayan epitelin üzerinde hiperkromatik nükleuslu, yer yer düzensiz, azalmış münin sekresyonu gösteren yüksek kolumnar, çok sıralı hücrelerle döşeli, dallanan glandlar meydana getiren neoplastik epitel bulunur (10). Sap kısmı fibromusküler doku ve belirgin kan damarlarını içerir ve bu alan nonneoplastik normal mukoza ile kaplıdır (37).

1.2.2.3.2.2 Villöz Adenom

Tübüler adenomlardan daha büyük (çoğu >2cm), çoğunlukla saplı poliplerdir. Kadifemsi ya da karnıbahar benzeri bir yüzeye sahip ve lümene doğru villus benzeri çıkıntılar oluşturan kitleler şeklindedir. Villöz adenomlar, kolonoskopik olarak değerlendirilen asemptomatik hastaların yaklaşık %20'sinde görülür (10). Villöz adenomların %30-40'ında invaziv karsinom gözlenmektedir (36).

1.2.2.3.2.3 Tübülovillöz Adenom

Tübüler ve villöz yapıların karışımından oluşmaktadır. Tübüler yapı %75'den fazla ise tübüler adenom, %50'den fazla villöz yapı varsa villöz adenom, %25-50 villöz yapı varsa tübülovillöz adenom denilmektedir (4). İnvaziv karsinom taşıma riski, displazi derecesi ve boyutları açısından, tübüler ve villöz adenomların arasında yer alır (10).

1.2.2.3.2.4 Yassı (Flat) Adenom

Genellikle 1 cm altında, yassı ya da hafif kabarık lezyonlar şeklindedir. Yassı (flat) veya diğer adı ile deprese adenomlar histolojik olarak tübüler adenoma benzer ve genellikle yüksekliği 2 mm'nin altındadır. Tanım olarak adenomatöz mukozanın kalınlığı normal mukozanın kalınlığının iki katını geçmez. Bu adenomlar %41-42 oranında displazi gösterirler (4). Sağ kolonda daha sık görülürler. Adenomatöz değişiklikler luminal yüzeyde kriplerde sınırlı olup altında nonneoplastik epitel bulunur (38).

1.2.2.3.3. Diğer Polipler

1.2.2.3.3.1 Serrated Lezyonlar

Kolorektal adenomların %1-2'sini oluştururlar. Morfolojik olarak testere dişi (serrated) ya da yıldızlı görünümde epitel ile karakterizedir. Bu lezyonlara adını veren serrated epitelin nedeni, apoptoz inhibisyonu sonucu hücrelerin epitelde birikerek epitele karakteristik kıvrıntılı görünümü kazandırmasıdır. Hiperplastik polip, sapsı serrated adenom/polip ve serrated adenomlar bu grupta yer alır (4, 10).

Serrated adenomların ortalama görülme yaşı 63'tür. Kolonun her segmentinde görülmekle beraber 1 cm'den büyük lezyonlar sağ kolonda sıktır. Bir veya birden çok olabilirler. Histolojik olarak hiperplastik polibe benzer fakat maturasyon daha azdır ve displazik görünüm bulunmaktadır (36).

1.2.2.3.3.2 Jüvenil Polip

En sık hayatın 2. dekatında görülür. Olguların büyük çoğunluğu rektumda yerleşim gösterir. Histopatolojik olarak müsin içeren dilate glandlar inflame, sıklıkla ödemli, granülasyon dokusu görünümde stroma taşır. Bezler reaktif değişiklikler gösteren küboidal-kolumnar epitel ile döşelidir (4). Sıklıkla tek ve büyük (1-3 cm)

olup, genellikle saptır. Nadiren sporadik juvenil polipte intraepitelyal neoplazi (displazi), hatta karsinom odağı bulunabilir (10, 40).

1.2.2.3.3 Peutz – Jeghers Polipleri

Mide, ince bağırsak ve kolonda görülen hamartomatöz bir lezyondur. Tek olarak ya da mukokutanöz melanin pigmentasyonu ile birlikte Peutz-Jeghers Sendromunda olduğu gibi çok sayıda olabilir. Makroskopik boyutu 1 cm'den küçük olabileceği gibi 3,5 cm'den daha büyük de olabilir (41).

Histolojik olarak muskularis mukozadan kaynaklanan, dallanan düz kaslar ile çevrili bezlerden oluşur. Epitelyal komponenti polibin oluştuğu intestinal bölgedeki normal bağırsak epiteline benzer görünümdedir. Hamartomatöz karakterdeki bu polipler malign potansiyel taşımamaktadır (41).

1.2.2.3.4 İnflamatuvar Polip (Psdopolip)

Ülseratif kolitli hastaların %10-20'sinde izlenir. Ayrıca crohn hastalığı, amibiyazis ve şistozomiyazis ile iskemiye bağlı durumlarda görülebilir (42). Histolojik olarak juvenil polibe benzer şekilde reaktif epitel, inflame granülasyon dokusu ve fibröz dokudan oluşmaktadır (4).

1.2.2.3.4. Polipozis Sendromları

1.2.2.3.4.1 Familyal Adenomatoz Polipozis (FAP)

En sık görülen polipozis sendromu olup çok sayıda polip ile karakterize otozomal dominant geçiş gösteren kalıtsal bir hastalıktır (43, 44). 5. kromozomda yer bulunan APC genindeki mutasyon sonucu ortaya çıkar. FAP hastalarında bulunan tüm kolon epiteli kriptler boyunca artmış proliferasyon ile karakterizedir. Bu hiperproliferatif epitel, takiben oluşan mutasyonlar ya da gen delesyonları ile neoplastik transformasyona uğrar (45). Çoğu 5 mm'den küçük, saptı ve sferik yapıdadır (4).

1.2.2.3.4.2 Lynch Sendromu

İlk olarak Warthin tarafından 1913 yılında Herediter Nonpolipozis Kolorektal Kanser (HNPCC) olarak tanımlanan bu hastalık, daha sonra 1971 yılında Lynch ve Krush tarafından Lynch sendromu olarak tariflenmiştir. Bu sendrom kolon ve

rektum, endometrium, ince bağırsak, üreter veya renal pelviste karsinom gelişimi ile karakterize otozomal dominant geçiş gösteren kalıtsal bir hastalıktır. Bu grup içerisinde yer alan karsinomlar tüm kolorektal karsinomların %5-10'unu oluşturmaktadır (46). Olguların büyük çoğunluğunda mikrosatellit instabilite bulunur ve çeşitli germline mutasyonlar sonucu ortaya çıkar (47). FAP sendromu aksine Lynch Sendromunda genellikle tek bir adenom ya da karsinom odağı tutulur ve klinik olarak sporadik tümörlerden ayırt edilemez (48, 49).

1.2.2.3.4.3 Serrated Polipozis

Serrated Polipozis erkeklerde ve kadınlarda herhangi bir yaşta ortaya çıkar ancak daha çok orta ve ileri yaş hastalığıdır. Genellikle asemptomatik olup büyük polipler kanama yapabilir. Tanı kriterleri; Sigmoid kolonun proksimalinde en az 5 serrated polip (≥ 2 adet, polip çapı > 10 mm) veya sigmoid kolon proksimalinde her sayıda serrated polip (birinci derece akrabasında serrated polipozis olan bir bireyde) veya tüm kolonda yaygın 20'den fazla her çapta serrated polip varlığında tanısı konur.

İki klinik varyant bildirilmiştir. Tip I Serrated polipozis, özellikle proksimal kolonda yerleşen multiple SSA/P (Saplı Serrated Adenom/Polip) ile karakterize ailevi bir sendromdur. BRAF (V-RAF Murine Sarcoma Viral Onkogene Homolog B₁) mutasyonu sık görülür ve kanser riski artmıştır. Kanser gelişim riski tip II'ye göre biraz daha yüksektir. Tip II Serrated polipozis, kolon ve rektum boyunca yaygın ve özellikle proksimal kolonda yerleşen çok sayıda hiperplastik polip ile karakterize ailevi bir sendromdur. KRAS mutasyonu sık ancak kanser riski düşüktür (4).

1.2.2.3.4.4 Jüvenil Polipozis Sendromu

Otozomal dominant geçiş gösteren familyal bir kanser türüdür. Yaşamın ilk iki dekadında görülür. Kolorektal bölgede baskın olmak üzere gastrointestinal sistemde çok sayıda juvenil polip ile karakterizedir. Polipler mide ve ince bağırsakta da görülebilir. Tanı kriterleri; kolorektal bölgede 5'den fazla juvenil polip bulunması ya da gastrointestinal sistem boyunca juvenil poliplerin bulunması veya juvenil polipozis aile hikâyesi ile beraber herhangi bir sayıda juvenil polip bulunmasıdır. Bu hastalarda %30-40 oranında kolorektal karsinom, %10-15 oranında üst gastrointestinal sistem karsinomu gelişmektedir (42, 50).

1.2.2.3.4.5 Peutz – Jeghers Sendromu

Mukokutanöz pigmentasyon ve gastrointestinal hamartomatöz polipler ile karakterize otozomal dominant bir sendromdur. Normal populasyona göre karsinom insidansı artmış olup; memede %54, kolonda %39, pankreasta %36, midede %29 ve overde %21 oranında karsinom geliştiği bildirilmiştir (41). Tanısal kriterleri 3 veya daha fazla Peutz-Jeghers polibi veya aile hikâyesi ile beraber herhangi bir sayıda polip varlığı veya aile hikâyesi ile beraber mukokutanöz pigmentasyon veya pigmentasyon ile beraber herhangi bir sayıda polibin varlığıdır. Sinüs, bronş, mesane polipi ile ilişkilidir. Poliplerin boyutu 5-50 mm arasında değişkenlik gösterir (4).

1.2.2.3.4.6 Cowden Sendromu

PTEN Hamartom Sendromu olarak da adlandırılan bu sendrom otozomal dominant geçiş göstermektedir. Üç germ yaprağından gelişir ve organlardaki multipl hamartomlar ile karakterizedir. Cowden Sendromu ile ilişkili klasik hamartom trichilemmomadır. Diğer klinik bulguları, mukokutanöz lezyonlar, tiroidin benign anomalileri, memenin fibrokistik hastalığı, gastrointestinal hamartomlar, çok sayıda erken başlayan uterin leiomyomlar, makrosefali ve mental retardasyondur. Vakaların %35'inde gastrointestinal polipler görülmektedir. Çapları 3-10 mm arasında olup 2 cm veya daha fazla büyüklüğe de ulaşabilirler. Bu sendromun gastrointestinal polipleri malign potansiyel taşımaz. %10 vakada tiroid kanserleri, %50 vakada meme tümörleri saptanabilir (4).

1.2.2.3.4.7 Cronkhite – Canada Sendromu

Multipl kolorektal polip ve ektodermal anomaliler (tırnak atrofisi, deri pigmentasyonu, alopesi gibi) ile karakterize kalıtsal olmayan bir sendromdur. Bu hastalarda poliplerde adenomatöz değişiklikler ve kolorektal karsinom gelişebilir (51).

1.2.2.4. Diğer Nedenler

Bu grupta hormonal faktörler, safra asiti artışı ve kolesistektomi, ureterosigmoidostomi, ileostomi ve anastomozlar, mesleki faktörler (asbest ve organik çözücüler) yer alır (4).

1.2.3. Genetik Yatkınlık

Tüm kolorektal karsinomların yaklaşık %10-35'i ailesel geçiş gösterirken sadece bir kısmı ise sendromlarla açıklanabilir.

Yüksek riskli genetik hastalıklar morfolojik olarak polip sayısına göre çok sayıda poliple karakterize sendromlar (FAP gibi) ve az sayıda veya nonpolipozis sendromlar (Lynch sendromu gibi) olmak üzere ikiye ayrılır. Bu sendromların çoğunluğu otozomal dominant geçiş gösterir.

Geniş epidemiyolojik araştırmaların sonuçlarına göre birinci derece yakın akrabasında kolorektal karsinom bulunan kişilerde kolorektal karsinom gelişme olasılığı normal popülasyona göre 1,5-2 kat artmıştır. Bu birinci derece akraba elli yaş altında ise risk üç katına çıkar (4).

1.2.4. Kolorektal Karsinogenez ve Moleküler Ara Yollar

Kolorektal karsinogenez, normal hücrenin malign hücreye dönüşümünde genetik ve epigenetik değişikliklerin rol aldığı çok basamaklı bir süreçtir. Bu süreçte her basamakta farklı lezyonlar gelişmekte ve böylece moleküler değişimlere farklı morfolojik lezyonlar eşlik etmektedir (52, 53).

Kolorektal karsinogenezde, patogenetik olarak birbirinden farklı üç ara yol yer almakla birlikte, bu ara yolların her birinde, birden fazla mutasyonun aşamalı olarak birikimi söz konusudur. Ayrıca, bu ara yollarda yer alan genler ve oluşan mutasyonların birikim mekanizmaları birbirinden oldukça farklıdır (4).

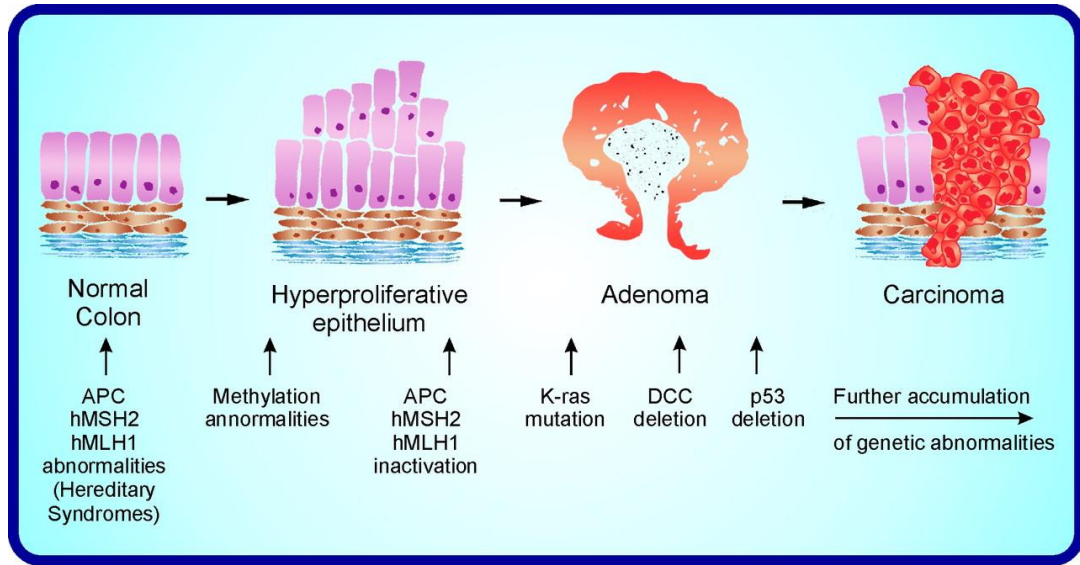
Güncel çalışmalar, kolorektal karsinomlarının %75'inin kromozomal instabilite ara yolu, % 15'inin mikrosatellit instabilite ara yolu üzerinden geliştiğini, diğerlerinin ise, iki arayolla da ilişkili olmayıp, CpG (C-phosphate-G) ada metilasyon fenotipi ara yolu üzerinden gelişebileceğini göstermektedir (54).

1.2.4.1. Kromozomal İnstabilite Ara Yolu

Bu ara yol, çeşitli onkogen ve supressor genlerde görülen seri mutasyonların birikimi sonucu oluşmaktadır (53). Kolon kanserinde genomik instabilitenin en yaygın tipi olan kromozomal instabilite, kolorektal tümörlerin %75'inde görülmektedir (54). Bu ara yolun morfolojik karşılığı ise adenoma-karsinoma sekansıdır (Şekil 1).

Kromozomal instabilite ara yolunda WNT (Wingless and İntegration 1), p53, RAS-MAPK ve TGF- β /SMAD (Transforming Growth Faktor- β /Mothers Aganist Decapentaplegic) olmak üzere 4 önemli sinyal iletim yolu vardır.

Büyümenin regülasyonunda, apoptozda, intestinal kök hücrelerin farklılaşmasında ve embriyogenezdede WNT sinyal iletimi rol oynar. WNT sinyal ara yolunda yer alan APC proteini, β -katenini parçalayarak sitoplazmadaki miktarını azaltır ve nükleusa geçini engelleyerek büyüme sinyalini durdurur. Beta-katenin düzeyindeki artış proliferasyondaki artışı da beraberinde getirir ve sonuçta adenom oluşur.



Şekil 1. Adenoma-karsinoma sekansı (88).

APC genindeki mutasyonların sonucunda FAP sendromu geliştiği bilinmektedir. APC genindeki değişiklikler neoplastik gelişimin erken evrelerinde oluşur. Kolorektal kansinomların %60'ında ve adenomların %63'ünde APC geninde en az bir adet somatik mutasyon bulunmaktadır. Sporadik kolorektal kanserlerin %80'inden fazlasında ise somatik hücrelerde APC gen mutasyonu saptanmıştır (55, 56). İkinci olay da anormal proliferatif epitelin adenoma ile ilerlemesidir. İkinci APC allelinin kaybı veya sadece mutasyonu sonucu oluşan inaktivasyonu adenomların %35-70'inde ve kanserlerin %35-45'inde görülür (36).

Günümüzde tümör süpresör gen olarak tanımlanan p53 geni 17. kromozomun kısa kolunda lokalize olan ve insan kanserlerinde en sık mutasyona uğrayan genidir. Tümörlerinin yaklaşık %50'sinde p53 mutasyonu görülmektedir (1). p53 proteini

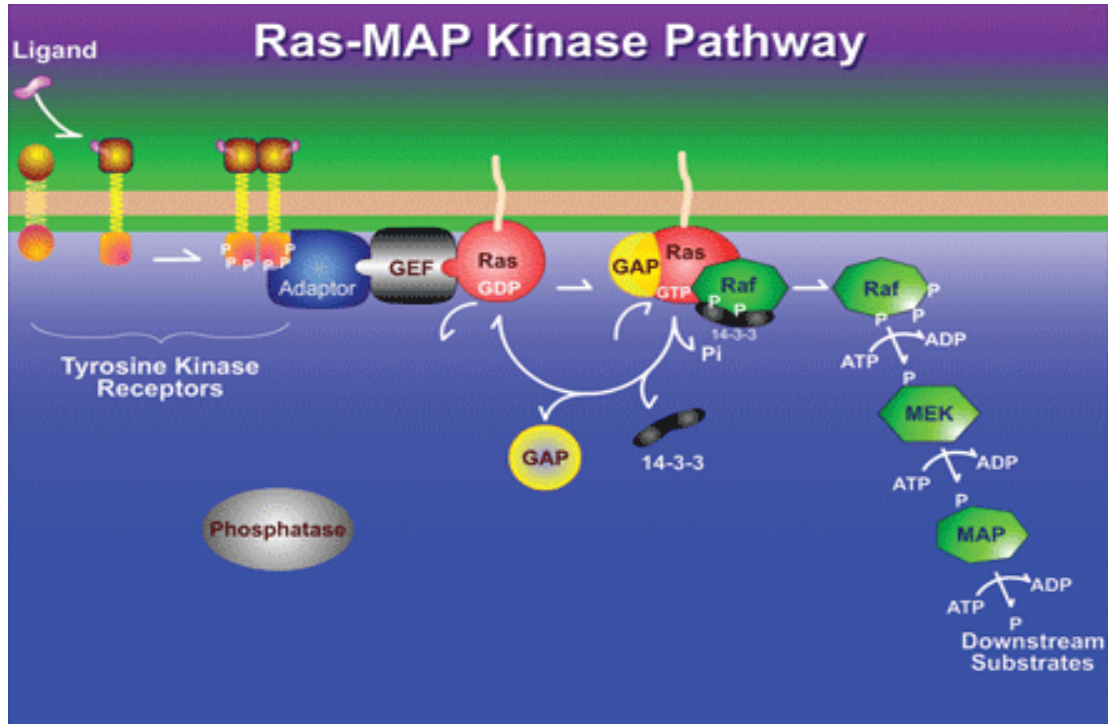
sadece normal hücre siklusunu kontrol etmez, DNA zedelenmesi durumunda ekspresyonu artar ve DNA'ya bağlanarak pek çok genin transkripsiyonunu stimüle eder. Ancak normal p53 işlevinin bozulması, kanser gelişimini baskılayan hücre içi yolların işlevlerinin bozulmasına neden olmakta ve bu durum hücrelerin kanserleşme sürecine katkıda bulunmaktadır. Normal büyümeyi sağlayan düzenleyici aktivitenin kaybı hücrelere aşırı büyüme avantajı, genetik instabilite ve apoptoz yeteneğinin kaybı gibi sonuçlar doğurarak düzensiz hücre büyümesine neden olur. p53 mutasyonlarının tek başına kanseri başlatmaya yeterli olmadığı, ek tümör süpresör veya onkogen mutasyonlarının gerektiğine dikkat çekmek gerekir. Kolorektal kanserli hastalarda p53 geninin 5-8 ekzonlarının tümünde mutasyonlar izlenir. Kolon kanser gelişiminin ileri evrelerinde p53 lokusunun heterozigotisindeki kayıp izlenir. Bu kayıp adenomların %10'dan azında izlenirken karsinomların %31-78'inde görülür. İleri evre kanserler p53 anormalliklerinin ile olan ilişkisi, p53 mutasyonlarının karsinomların daha agresif davranış sergileyeceğine işaret etmektedir. Tümörü p53 pozitif olan hastalarda daha ileri evre ve daha yüksek oranda lenf düğümü ve karaciğer metastazı izlenmektedir (36). Hücre siklusu durunca p53 DNA onarımına yardımcı proteinlerin ekspresyonunu artırır ya da hasar onarılamadıysa hasarlı hücreyi apoptoz ile ortadan kaldırır (57).

Hücrede çeşitli hormonlar, büyüme faktörleri, diferansiyasyon faktörleri tarafından RAS-MAPK sinyal ara yolu kullanılır. RAS proteinleri mitojenik sinyal yolunda büyüme faktörü reseptörlerini bağlar ve sırasıyla RAF (Rapidly Accelerated Fibrosarcoma), MEK (Mitogen Activated Protein Kinase Kinase) ve ERK (Extracellular Signal Regulated Kinase) proteinleri aracılığıyla protein kinaz kaskadı oluşturup, aktivasyonu başlatır. RAS proteininin aktif hale geçmesi için posttransyonel modifikasyondan sonra membrana yerleşmesi gerekir. Hücreye büyüme sinyali geldiğinde, RAS-GTP haline dönüşür. Aktif olan RAS, RAF proteinini harekete geçirerek mitogenez sürecini başlatır. RAS proteini, normal dokuda proliferasyon, diferensiyasyon ve iletim sinyallerinde önemli bir role sahipken, mutant genin oluşturduğu RAS proteini, birçok kanser tipinde etkili onkojenik bir proteindir (58) (Şekil 2).

Epitelyal hücreler için TGF- β proliferasyon inhibitörü olarak görev almaktadır. TGF- β 'nın hücrede büyüme inhibitör etkisine karşı oluşan duyarsızlık

sonucu tümör gelişimi gözlenir. TGF- β sinyal ara yolunda yer alan iki tane tümör süpresör geni bulunmaktadır; DCC (deleted in colon cancer) ve Smad4 (Mothers Against Decapentaplegic Homolog 4). Smad4 geni, hem büyümenin regülasyonu hem de apoptozda etkilidir. DCC bir nöral hücre adezyon molekülü homoloğu olup, mutasyonları kolorektal karsinomların progresyonu, invazyonu ve metastazında rol almaktadır (53). Smad4 DNA ile ilişkiye girerek hedef genlerde transkripsiyonun ve hücre proliferasyonunun düzenlenmesine direk ya da indirek etki gösterir. Smad4 mutasyonlarının sıklığı adenomdan karsinoma ilerlerken artış göstermektedir. Metastatik ve invaziv kanserlerde wild tip allel kaybı %95 oranında saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada Smad4 salınımları evre 2 kanserlerde %8, evre 3 kanserlerde %6, evre 4 kanserlerde %22 oranında saptanmıştır. Bu bilgiler de Smad4'ün kolorektal karsinogenezin geç döneminde inaktivasyona uğradığını düşündürmektedir. Smad4'ün sadece kolorektal kanserlerde değil prostat, meme, over, baş ve boyun, özofagus ve mide kanserlerinde de değişken oranlarda mutasyona uğradığı bilinmektedir (36).



Şekil 2. RAS-MAPK sinyal ara yolu (89)

1.2.4.1.1. RAS Onkogeni

Normal dokuda proliferasyon, diferensiyasyon ve senesens sinyallerinde RAS proteini önemli bir role sahipken, mutant genin oluşturduğu RAS proteini, birçok kanser tipinde etkili onkojenik bir proteindir (58). Normalde hücrelerde bulunmayan RAS onkogeni, tümör gelişimi sırasında mutasyonlar sonucunda tümör hücrelerinde oluşur. RAS onkogeni tek aminoasit değişimi ile oluşan nokta mutasyonlar sonucu protoonkogenen oluşur. RAS onkogeninde 12. 13. ve 61. kodonlarda gelişen aminoasit değişiklikleri sık görülür (59).

Moleküler biyoloji ışığında otuzun üzerinde değişik RAS geni tespit edilmiş olmakla beraber en önemli üç üyesi; HRAS (Harvey Rat Sarcoma), KRAS, NRAS (Neuroblastoma Rat Sarcoma) tümörlerde en sık görülen onkogenlerdir. Özellikle KRAS gen mutasyonu diğer RAS geni mutasyonlarına göre daha sık görülmektedir (60).

Tüm RAS genleri farklı kromozomlar üzerinde lokalize olmasına rağmen tümü 21 kilo daltonluk bir protein kodlamaktadır. RAS proteinleri G proteinleri ailesinden olup guanosin nükleotidlerini bağlama yeteneğindedir (61). RAS gen ailesi plazma zarında sinyal geçişinde görev yapar. Hücre büyüme sürecinde anahtar işlev görev normal RAS proteini bazı durumlarda mutasyona uğrayarak hücre büyümesini teşvik eder (62).

Başlangıçta inaktif olarak sentezlenen RAS proteinlerin aktivasyonu için, lipid modifikasyonu ve plazma membranına kuvvetli şekilde bağlanması gereklidir. Sonra bir dizi modifikasyona uğrayarak plazma membranının iç yüzeyine transloke olur (60, 63). RAS protoonkogenleri normal proteinin aşırı ekspresyonu veya gen proteinini kodlayan zincirdeki nokta mutasyon sonucu ortaya çıkar (64).

RAS-MAPK sinyal ara yolunda yer alan RAS proteini epitelyal kanserlerin %25'inde mutasyona uğrar ve proliferasyon hızının önemli ölçüde artmasına neden olur (65). İnsanda görülen tüm tümörlerin %15-20'sinde mutant RAS proteini bulunur (10).

1.2.4.1.2. KRAS Geni

KRAS geni bir protoonkogenidir. Kanserlerdeki RAS mutasyonlarının %90'ı KRAS geninde ortaya çıkar. KRAS 12. Kromozomun kısa kolu üzerinde hücre membranı ve sitoplazma yerleşimli olan ve intrasellüler sinyal üretimde yer alan G

proteini ile ilişkili bir gendir (66). KRAS mutasyonlarının çoğu kodon 12, 13, 59 ve 61'de tanımlanmıştır (67). Mutant KRAS geni pankreas, kolon ve akciğer adenokarsinomlarında daha yaygındır (64).

KRAS geninin ürünü 21 kDa ağırlığında guanozin trifosfat / guanozin difosfat (GTP/GDP) bağlayıcı proteindir. Bu protein hücre membranının iç kısmına yerleşmiş olup GTP bağımlı sinyal iletimi, hücre büyümesinin kontrolü, farklılaşması ve yaşam döngüsü ile ilişkilidir (68). KRAS geninin mutasyonu RAS-MAPK sinyal yolağının yapısal aktivasyonu ile sonuçlanır ve bunun sonucunda da düzensiz proliferasyon ve bozulmuş diferansiyasyon oluşur (69).

Kolorektal kanserlerde en sık görülen mutasyonların KRAS geninin 12. ve 13. kodonları üzerinde olduğu bilinmektedir. Kodon 12, 13 ve 61'deki mutasyonlar; RAS protoonkogenlerin onkogenlere dönüşmesine ve sonuçta otonom hücre büyümesine ve çoğalmasına neden olur (14). RAS mutasyonları adenom gelişimde erken evrelerden çok orta evrelerde oluşur. Büyük adenomlarda küçük adenomlardan daha siktir. RAS mutasyonları genellikle APC mutasyonlarını takip eder. KRAS mutasyonları sporadik adenomlarda daha sık olup adenomlarda %12-75, kolorektal karsinomlarda ise %21-65 oranında izlenir (36).

1.2.4.2. Mikrosatellit İnstabilite Ara Yolu (MSI)

Mutator ara yol olarak ta bilinen mikrosatellit instabilite ara yolu (MSI), DNA yanlış eşleşme mismatch tamir (MMR) genlerindeki mutasyonlar sonucu oluşmaktadır. Gelişmiş ülkelerdeki sporadik kolorektal kanserlerin yaklaşık %15'inde ve HNPCC'li hastaların hemen tümünde MSI yolağı bulunmaktadır (2,3). Mikrosatellit, ardışık tekrarlanmalar içeren DNA tipidir. MMR, DNA replikasyonu esnasında insersiyonları ve delesyonları düzeltir (4). Çok sayıdaki mikrosatellit insan genomları arasında serpiştirilmiş olarak bulunmakta ve DNA replikasyonu sırasında hataya neden olabilmektedir. Bu hatalar büyük oranda MMR proteini ile onarılmaktadır. MMR yokluğunda da mikrosatellit hataları birikim göstermektedir. Bu hataların sıklığı belirgin olarak arttığında MSI terimi kullanılmaktadır (70).

Kolorektal tümörler, mikrosatellit instabilitesi açısından 3 grupta değerlendirilmektedir: Mikrosatellit-stabil (MSS), Yüksek mikrosatellit instabil (MSI-H) ve Düşük mikrosatellit instabil (MSI-L). MSS tümörlerin genetik profili, MSI-L ile çok benzerdir, ancak, MSI-H tümörler oldukça farklı bir profil sergilerler.

MSI-L tümörler, sol kolon yerleşimli ve en az MSS tümörler kadar agresif bir gelişim paternine sahiptir. Bu grupta en sık görülen genetik değişiklikler, KRAS ve p53 mutasyonları ile 5q, 17p ve 18q lokasyonlarında heterozigotluk kaybı olmakla birlikte, en karakteristik özellikleri bazı DNA MMR genlerinin kısmi metilasyonu ile genin susturulması ve O(6)metilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT) geninin metillenmesi sonucunda protein ekspresyon kaybıdır (4).

Mismatch tamir geninde 5 mutasyon tariflenmiştir: hMSH1, hMSH2, hPMS1, hPMS2 ve MSH6. Lynch sendromu olarak da bilinen Herediter Non-Polipozis Kolorektal Kanser Sendromunda bunların çoğunluğunun kalıtsal mutasyonu izlenebilmekte ve %90'dan fazlası hMSH1 veya hMSH2 şeklinde görülmektedir. Ayrıca birçok HNPCC tümörü, gelişiminden önce MMR'nin her iki kopyasının da inaktivasyonuna neden olacak şekilde, her iki allel çiftinde mutasyon ya da wild tip allel yokluğunu barındırır (4, 70).

Sporadik kolorektal kanser ve HNPCC'de MSI-H varlığı diploid DNA içeriği, Duker evrelemesi, proksimal kolon yerleşimi, sağ kalın ve müsinöz diferansiasyon ile anlamlı bir korelasyon göstermektedir (70).

Mikrosatellit instabilite ara yolunda gelişen kolorektal kanserlere, genellikle serrated poliplerin öncülük ettiği düşünülmeyle birlikte, Lynch sendromunda adenom öncülüğünde ya da "de novo" kanserleşme olabileceği görüşü kabul edilmektedir (71).

1.2.4.3. CpG Ada Metilator Fenotipi Ara Yolu (CIMP)

Promotor bölgelerde görülen CpG adaları normal koşullarda aktif olan bir gende metillenmemiştir. Bu bölgelerin metillenmesi sonucu ilgili gen susturulur ve protein ekspresyonu gerçekleşemez (72). CpG adalarının hipermetilasyonu bazı lokuslarda yaşlanma ile birlikte normalde görülmekle beraber kanser ilişkili metilasyon anomalilerinin farklı genlerde gelişebileceği görülmüştür. İnsan promotorlarının %60'ından fazlasında CpG adasının yer aldığı saptanmıştır. Sitozin nükleotidinde metil grubunun bağlanması Guanin-Sitozin baz eşleşmesini etkilemez. Ancak metil gruplarının dışarı doğru çıkıntı yapması, transkripsiyon için gerekli DNA-protein etkileşimini engellediği için gen ifade edilemez ve böylece gen susturulmuş olur.

Kolorektal karsinomların %20'sinin CpG hipermetilasyonu, %20'sinin düşük düzeyde CpG metilasyonu gösterdiği %60'ının ise CpG metilasyonu göstermediği izlenmiştir (73). Kolorektal karsinomların CIMP durumu, genellikle MSI durumu ile ve KRAS ve BRAF mutasyonları ile ilişkilidir. Buna göre, MSI-H ve BRAF mutasyonu olanlar CIMP1 grubu, MSS ve KRAS mutasyonu olanlar ise CIMP2 grubu olarak değerlendirilmektedirler. CIMP negatif olanlar ise genellikle MSS kanserlerdir (4). Çok sayıda gen içeren DNA metillenmesi üzerine yapılan çalışmalar, bazı kanser tiplerinde kanserle ilişkili gen gruplarının eşzamanlı olarak metillendiği görülmektedir (74).

1.2.5. Lokalizasyon

Kolorektal karsinomların %50'si rektosigmoid bölgede, %30'u sağ kolonda, %20'si ise sol kolon ve transvers kolonda yerleşir. İleri yaşla birlikte kolorektal karsinom yerleşimi daha proksimaldedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda; mikrosatellit instabilitesi ve CpG ada metilasyonu içeren mikrosatellit stabil tümörler daha çok çekum, çıkan kolon ve transvers kolonda yerleşme eğilimi göstermiş olup CpG ada metilasyonu içermeyen mikrosatellit stabil tümörler ise genelde sol kolonda yerleşimi göstermiştir (4).

1.2.6. Klinik Özellikler

Kolon karsinomları ilk yıllarda asemptomatik kalsa da sonraki dönemlerde dışkılama alışkanlıklarında değişiklikler, rektal kanama, anemi, nonspesifik karın ağrısı gibi semptomlarla belirti verir. Birçok hastada ilk ve en sık bulgu dışkılama alışkanlıklarında değişikliktir. Özellikle bu hastalarda kabızlık mevcuttur. Sağ kolon yerleşimli tümörlerde hastalar gizli kanama nedeniyle demir eksikliği anemisi ile kliniğe başvururlar ve genelde ileri dönemde tanı alırlar. Lümenin geniş olması, feçesin daha sıvı kıvamlı ve tümörün ekzofitik büyüme eğilimi nedeniyle obstrüksiyon nadirdir. Sol kolon yerleşimli tümörlerde ise lümenin dar olması, feçesin sert olması ve tümörün anüler tarzda büyümesi nedeniyle konstipasyon bulguları sık görülür. Bu durumla ilişkili olarak da abdominal distansiyon, obstrüksiyon veya perforasyon gerçekleşebilir. Rektal kanama ikinci sıklıkta görülür. Rektosigmoid yerleşimli lezyonlarda tenesmus ve rektal kanama oluşabilir. Diğer nonspesifik semptomlar ateş, huzursuzluk, kilo kaybı ve karın ağrısıdır.

Hastalarda bu klinik bulguların ve belirtilerin herhangi birisi görüldüğünde rutin fizik muayeneye rektal muayene eklenmelidir. Kolon tümörlerin yarısında çoğu rektosigmoid bölgede yerleştiğinden tanıda kolonoskopi önemli yer alır. Kolonoskopi, mukozal yüzeyi değerlendirmek için kullanılır. Ek olarak biyopsi alınmasını veya lezyonun tedavi amaçlı olarak çıkarılmasını sağlar. Polipektomi, mukozal rezeksiyon veya submukozal diseksiyon adenomlar ve yüzeyel karsinomlar için uygulanır.

Görüntüleme teknikleri non invaziv tanı ve klinik evreleme imkânı sunar. Baryum enema günümüzde yerini bilgisayarlı tomografiye bırakmıştır. Bunun yanı sıra manyetik rezonans görüntüleme ve transrektal ultrasonografi ile tümör invazyonunun derinliği ile bölgesel ve uzak metastaz değerlendirilmektedir. Sintigrafi ve pozitron emisyon tomografi (PET) hastalığın yayılımını ölçmek için kullanılmaktadır (4).

1.2.7. Makroskopi

Kolorektal karsinomlar belirgin intraluminal büyüme ile ekzofitik (mantarimsı), belirgin intramural büyüme ile endofitik/ülseratif, lüminal daralma ve kolorektal duvarın çepeçevre tutulumuyla anüler ve daha az yaygın olarak diffüz infiltratif/linitis plastica gibi farklı paternlerde makroskopik büyüme gösterirler. Tümörlerin yaklaşık üçte ikisinde ülserasyon görülür. Proksimal kolonda yerleşen tümörler genellikle ekzofitik paternde iken, inen kolonda yerleşen tümörler çoğunlukla endofitik ve anüler paterndedir.

Tümörlerin kesit yüzleri gri-beyaz ve iyi sınırlıdır. Genelde nodüler, lobüler ve papiller şekilde olabilir. Müsinöz tümörler jelatinöz ve parlaktır. Çoğu tümörün kesit yüzeyi homojen görünümündedir. Bazı alanlarda nekroz olabilir. Yüksek mikrosatellit instabiliteye sahip tümörler, genellikle iyi sınırlıdır ve %20'si müsinözdür (4).

Makroskopik incelemede değerlendirilmesi gereken önemli özellikler; tümörün duvarda sınırlı olup olmadığı, perikolik dokuya uzanıp uzanmadığı, makroskopik damar invazyonunun varlığı ve diğer alanlarda herhangi bir tip karsinom ya da polip bulunup bulunmadığıdır (28).

1.2.8. Histopatoloji

Adenokarsinom tanısı için displastik hücrelerle döşeli, farklı büyüklük ve şekildeki glandüler yapılarından oluşan tümörün muskularis mukozadan submukozaya geçtiğinin görülmesi gerekmektedir. Kolorektal karsinomların %90'ından fazlası adenokarsinomdur (Tablo 1).

Kolorektal adenokarsinomun morfolojik kriterlerini taşıyan, mukozaya sınırlı veya lamina propriayayı dolduran ancak submukozaya ilerlemeyen lezyonların metastaz yapma kapasitesi yoktur. Çünkü yüksek dereceli displazi veya intramukozal karsinom şeklinde adlandırılan lezyonların tam olarak çıkarılması küratiftir ve ek cerrahi gerektirmez (4).

Kolon adenokarsinomları gland yapıların varlığı temel alınarak üç derecede; iyi diferansiyel, orta derecede diferansiyel ve az diferansiyel olarak değerlendirilir. Adenokarsinomların %60'ı orta derecede diferansiyel, %25'i iyi diferansiyel ve %15'i az diferansiyeldir. Değişik miktarlarda müsin sekrete eden bir tümördür. Tümör; kolumnar hücreler, goblet hücreleri, seyrek endokrin hücreler ve çok nadir Paneth hücrelerinin kombinasyonundan oluşur. Gland lümenleri sıklıkla hücre kalıntıları içerir. Mitotik aktivite gösteren çok sayıda düzensiz bez yapısı görülmektedir. Erken invaziv karsinomlar güçlü bir desmoplastik cevap oluşturur. Tümör çevre stromasında inflamatuvar ve desmoplastik reaksiyon sıklıkla belirgindir ayrıca metaplastik değişiklikler de görülebilir. Bu da minimal invaziv kanserlerin tanısına yardımcı olur. Ancak bazı tümörler bağırsak duvarını tutmalarına rağmen desmoplastik cevap oluşturmayabilir. Çoğu vakada tümörün yüzeyi ile derin kısmı veya metastazı arasında histolojik farklılık yoktur. Birçok ekzofitik karsinomda histolojik olarak malign hücreler ile döşeli papiller yapılar bulunur. Ancak infiltratif komponent genellikle non papillerdir. Çok az tümörde invaziv komponent papiller yapıdadır.

Kolon adenokarsinomları ekspansif veya infiltratif büyüme paterni ile duvarı istila eder. Tümörlerin yaklaşık %75'i iyi sınırlı olup %25'i diffüz infiltratiftir (36).

Tablo 1. Kolorektal Tümörlerin Histolojik Sınıflaması (WHO 2010).

EPİTELYAL TÜMÖRLER	MEZENKİMAL TÜMÖRLER
<i>Premalign lezyonlar</i>	Leiomyom
Adenom	Lipom
Tübüler	Gastrointestinal stromal tümör
Villoz	Leiomyosarkom
Tübülovilloz	Anjiosarkom
Düşük dereceli glanduler intrepitelyal neoplazi	Kaposi sarkom
Yüksek dereceli glanduler intraepitelyal neoplazi	
Serrated lezyonlar	LENFOMALAR
Hiperplastik polip	Diffüz büyük B hücreli lenfoma
Sesil serrated adenoma/polip	MALT tipi marjinal zon B hücreli lenfoma
Traditional serrated adenom	Mantle hücreli lenfoma
Hamartomlar	Burkitt lenfoma
Cowden-ilişkili polip	Burkitt” benzeri “atipik Burkitt” lenfoma
Juvenil polip	Diğer
Peutz-Jegher polip	
<i>Karsinomlar</i>	SEKONDER TÜMÖRLER
Adenokarsinom	
Musinoz adenokarsinom	
Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom	
Serrated adenokarsinom	
Mikropapillar karsinoma	
Meduller karsinom	
Kribriform komedo-tip adenokarsinom	
Skuamoz hücreli karsinom	
Adenoskuamoz karsinom	
Spindle hücreli karsinom	
Undiferansiye karsinom	
<i>Nöroendokrin neoplazmlar</i>	
Nöroendokrin tümör (NET)	
NET G1 (Karsinoid)	
NET G2	
Nöroendokrin karsinoma(NEC)	
Büyük hücreli NEC	
Küçük hücreli NEC	
Mikst adenonöroendokrin karsinom	
EC hücre, serotonin üreten neoplazm	
L hücre, glukagon benzeri peptid ve PP/PYY NETs	

1.2.8.1. Adenokarsinomların Alt tipleri

1.2.8.1.1. Müsinöz Adenokarsinom

Müsinöz adenokarsinom tanısı, tümörün %50'sinden fazlası malign epitel içeren ekstraselüler müsin gölcükleri içeriyorsa düşünülür. Bazı vakalarda ekstraselüler ve intraselüler müsin birikimi karışımı vardır. İntraselüler müsin birikimi taşlı yüzük görünümüne neden olur. Müsinöz alan oranı %50'nin altında olan karsinomlar müsinöz komponentli olarak kategorize edilirler. Müsinöz tümörler kolorektal karsinomların %15'ini, rektal kanserlerin %33'ünü oluşturur ve en sık rektumda görülürler (4).

Müsinöz adenokarsinomlarda salgılanan müsin bir asit polisakarittir ve periyodik asit şift (PAS), müsikarmin ve asidik anilin mavi ile pozitif boyanır. Yapılan bir çalışmada %31'i villöz adenomla, %7'si ülseratif kolitle, %8'si nonspesifik kolitle ve %5'i pelvik radyasyon ile ilişkili bulunmuştur. Müsinöz tümörler sıklıkla genç hastaları ve HNPCC'li hastaları etkiler. Yaşamın ilk üç dekatında görülen kolorektal kanserlerin yaklaşık %79-83'ü müsinözdür. Müsinöz tümörlerde rekürrens, komşu vissera ve lenf düğümlerine yayılım müsin içermeyen tümörlere göre daha sıktır.

Müsinöz adenokarsinomlar adenokarsinomların klasik tipinden daha kötü prognoza sahiptir ve müsin komponentin oranı arttıkça prognozun kötüleştiği bildirilmektedir ve 5 yıllık yaşam süreleri %17-18 arasında olup ortalama yaşam süresi 33 aydır (36).

1.2.8.1.2. Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom

Kolorektal kanserlerin yaklaşık %1,1'ini oluşturur ve genç hastalarda görülür. Tümör hücrelerinin %50'sinden fazlasında intrasitoplazmik müsin bulunmasıyla karakterizedir. Hücrenin nükleusu perifere itilmesiyle taşlı yüzük görünümüne neden olur. Taşlı yüzük alanları %50'nin altında olan tümörler taşlı yüzük hücreli komponentli adenokarsinomlar olarak adlandırılmaktadır. Taşlı yüzük hücreleri müsin gölcüklerinin içerisinde olabileceği gibi linitis plastika paterninde diffüz infiltratif halde olabilir. Geniş taşlı yüzük hücreler globoid hücreler olarak da adlandırılabilir. Bazı taşlı yüzük hücreli karsinomlar MSI-H'dır ve düşük derecelidir. MSI-H bulundurmeyen tümörler daha agresiftir (4).

Taşlı yüzük hücreli karsinomlu olgularda tanı anında hastalık klasik adenokarsinoma göre daha ileri düzeydedir. Tanıdaki bu gecikme hastaların genç yaşta oluşuna ve hastalığın iltihabi bağırsak hastalığına benzer bulgular oluşturmasına bağlanabilir. Taşlı yüzük hücreli karsinomlu olguların yaklaşık %20'sinde ülseratif kolit bulunmaktadır. Lenf nodları, peritoneal yüzey ve overe metastaz yapma eğilimindedir. Genellikle peritoneal yayılım gösterir ve prognoz çok kötüdür. Primer taşlı yüzük hücreli karsinom tanısı vermeden önce primer gastrik lezyonun kolorektal metastazı olup olmadığı mutlaka araştırılmalıdır. Tümör intramural yayılma eğiliminde olduğundan lezyonun radyolojik, endoskopik veya gros olarak tespiti zordur (36).

1.2.8.1.3. Medüller Karsinom

Genelde kadınlarda, çekum ve sağ kolon yerleşimlidir ve nadir görülür. Bu varyantta tümör hücreleri malign hücre adaları oluşturur. Malign hücreler veziküle nükleuslu, belirgin nükleoluslu, bol pembe sitoplazmalıdır. Tümör adaları çevresinde belirgin intraepitelyal lenfosit infiltrasyonu görülür. Nöroendokrin belirteçler negatiftir. MSI değişik derecelerde olabilir. Bu tümörler genellikle daha iyi prognozludur (4).

1.2.8.1.4. Serrated Adenokarsinom

Yapısal olarak sapsı serrated poliplere benzerler ve nadir görülen varyantdır. Bu tümörler; berrak ya da eozinofilik sitoplazmalı veziküle nükleuslu hücrelerin izlenmesi, nekroz olmaması ya da nekrozun %10'dan az olması, müsin üretimi ve müsinöz alanlarında papiller yapılar bulunması ile tanınırlar. Nükleus sitoplazma oranı düşüktür. Serrated adenokarsinomlarda MSI-L, MSI-H ve BRAF mutasyonu ve ile CpG hipermetilasyonu görülebilir (4).

1.2.8.2. Adenoskuamöz Karsinom

Tanısı için adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom komponenti birlikte bulunmalıdır. Nadir bir varyant olup tüm kolorektal karsinomların yaklaşık %0,06'sını oluşturmaktadır. Tümörde skuamöz komponentli adenokarsinomdan daha fazla oranda skuamöz diferansiye alan bulunmalıdır (4).

Sağ ve sol kolon arasında eşit dağılım gösterdikleri bildirilmektedir. Tümörün ürettiği paratiroid hormonuna benzer madde nedeniyle hiperkalsemi bulguları görülebilmektedir.

Bu kanser türü tanı anında genellikle ileri evrededir. Evre I/II kanserler aynı evre adenokarsinomlar ile eşit sağ kalım süresine sahipken evre III/IV kanserlerde bu süre önemli ölçüde daha düşüktür. Beş yıllık sağ kalım süresi ortalama %31'dir. İki yıldan uzun süre yaşayan hastalarda ise 5 yıllık sağ kalım oranı %84'tür (4).

1.2.8.3. Skuamöz Hücreli Karsinom

Oldukça nadir görülmekte olup tüm kolorektal karsinomların %0,1'ine denk gelmektedir. Histopatolojik özellikleri diğer organlarda görülen skuamöz hücreli karsinoma benzerdir. Tanısı için diğer organ metastazının ekarte edilmesi, ilişkili olabilecek fistül traktının ekarte edilmesi ve anüs karsinomlarının diferansiasyonlarının ayırt edilmesi gerekmektedir. Lenf düğümü tutulumu göstermeyen olguların 5 yıllık yaşam sürelerinin yaklaşık %84 olduğu bildirilmektedir (9).

1.2.8.4. İndiferansiye Karsinom

Nadir görülen bu varyantta, tümörde morfolojik, immünohistokimyasal ve moleküler biyolojik kanıtları epitelyal tümör diferansiasyonu kaybetmiştir (4).

Bazı çalışmalara göre bez yapılarının %5'den az oranda bulunması gerekmektedir. Bu tümörler yüksek derecedeki hücrelilikleri ve desmoplazi göstermemeleri nedeniyle büyük boyutlarda ve yumuşak yapıdadırlar. Geniş nekroz alanları içerirler. Anaplazi derecesi değişken olup bazı tümörlerde hücreler üniform iken bazılarında belirgin nükleer atipi bulunabilir. Saf indiferansiye kanserler nadir olmakla birlikte birçok tümörde indiferansiye selüler alanlar bulunabilmektedir. Bu tümörleri adenokarsinom şeklinde sınıflandırmak ve bez yapılarına göre derecelendirmek en doğru yöntemdir (9).

1.2.8.5. Nöroendokrin Tümörler

Tüm kolon tümörleri içerisinde %1-2 oranında görülürler. Bu tümörler gastrointestinal endokrin sistemdeki endoderm kökenli epitel hücrelerinden gelişir. Bu tümörlerin sınıflandırılmasında son yıllarda lokalizasyon, çap, invazyon derinliği ve fonksiyon özellikleri kullanılır. Nöroendokrin diferansiasyon şu şekilde gelişir:

1. Dağınık endokrin hücreler tipik adenokarsinomlarda (müsinöz tipte kısmen) bulunabilirler. Bu hücrelerin tümör gelişimi ve prognozla ilgileri olmayıp %15-50 oranında görülürler. Kromogranin ile veya hibridizasyonla tanınırlar. Kemoterapi ve radyoterapi sonrası sıkça rastlanır.
2. Karışık kompozisyon: Bu grupta adenokarsinom ile karışık endokrin diferansiasyon alanları mevcuttur.
3. Bu formda tümörler nöroendokrin karsinom özelliği gösterirler. Ancak organoid yapı görülmez ve daha ziyade büyük hücrelidirler. Bu tümörler küçük hücreli nöroendokrin karsinomun intermedier varyantı, atipik karsinoid ve yüksek dereceli nöroendokrin karsinom gibi isimlerle anılırlar.
4. Küçük hücreli nöroendokrin karsinom: Histopatolojik olarak akciğerin küçük hücreli karsinomu ile aynı özellikleri taşır ve kolorektal kanserlerin % 1'inden azını oluşturur. Tanı sırasında hemen tüm olgularda lenf düğümü ve karaciğer metastazı vardır ve prognozu kötüdür. Bu tümörün tanısı immünohistokimyasal olarak kromogranin, sinaptofizin, NSE ve Leu-7 nin gösterilmesi ile konur. Çoğu sağ kolon yerleşimlidir.
5. Tipik Karsinoid tümör (26, 27)

1.2.9. Evreleme

Kolorektal karsinomlarda evreleme için ilk olarak 1937 yılında “Dukes” tarafından tarif edilen, rektal karsinomlarda kullanılmak üzere önerilen sistem kullanılmıştır (Tablo 2). Bu sistem, tümörün penetrasyon derinliği ile lenf nodu metastazının varlığı ya da yokluğuna dayalı olup, prognoz ile direkt ilişkili olduğu için halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha sonra 1954 yılında “Astler ve Coller” tarafından “Dukes” sınıflaması gözden geçirilerek modifiye edilmiş ve farklı bir evreleme sistemi önerilmiştir (Tablo 3).

Amerikan Kanseri Birliği ve Uluslararası Kanseri Birliği TNM evreleme sistemini geliştirmiştir. Günümüzde ise TNM sınıflama sistemi evrelemede en çok tercih edilen sistemdir. Bu sınıflama sistemi 2002 yılında kabul edilmiştir. Bu evreleme sistemi hem klinik hem de patolojik evrelemeye yardımcı olur (4, 27, 28, 36).

1.2.9.1. Tümör İnvazyonu (T)

Tümörün submukoza invazyonu (T1) ve muskularis propria invazyonu (T2) kolayca tanınır. Submukoza invazyon yapmadan önceki aşamada T_{is} tanımı neoplastik atipik hücreler intraepitelyal neoplazi (eski adıyla displazi) veya lamina propria (intramukoza) ile sınırlı ancak muskularis mukozaya uzanım göstermeyen lezyonlar için kullanılmaktadır. Perikolik yağ doku ve peritoneal örtü birlikte serozayı oluşturur. Seroza invazyonunu belirlemek bazen oldukça güç olabilir, ancak subserozaya invaze ya da nonperitonealize perikolik dokuya invaze (T3), tümör komşu organ ya da yapılara invaze ve/veya periton perforasyonu göstermekte (T4) olarak sınıflandırılır. Bu özellik intraabdominal progresyon açısından yüksek riske işaret eder. Serozal yüzey üzerinde tümör hücrelerinin inflamatuvar reaksiyon veya mezotelyal hiperplazi ile birlikte veya tek başına yer alması T4 olarak sınıflandırılır. Ayrıca tümör hücrelerinin serozal yüzey üzerinde yer alması da, inflamatuvar ve/veya hiperplastik reaksiyonu ile birlikte serozaya çok yakın olması durumu da T4 olarak tanımlanmalıdır. Bu üç durum, özellikle ilk iki durum kötü prognoz ile ilişkilidir. Makroskopik olarak diğer organ veya yapılara yapışık tümörler T4 olarak sınıflandırılır. Ancak eğer yapışıklık yerinde mikroskopik olarak tümör yoksa sınıflandırma T3 olmalıdır (4, 9).

1.2.9.2. Lenf Düğümü Tutulumu (N)

Patolojik değerlendirmenin yeterliliği için örneklenen lenf düğümü sayısı önemlidir. Lenf düğümü tutulumu göstermeyen kolorektal karsinomların prognozu direk olarak tutulum göstermeyen lenf düğümü sayısı ile ilişkilidir. Tanı için en az 14 lenf düğümü örneklenmelidir.

Perikolik yağ dokusunda izlenen bir tümör nodülü boyutuna bakılmaksızın düzgün sınırlı ve yuvarlak ise lenf düğümü metastazı olarak kabul edilmelidir. Yine boyutuna bakılmaksızın, düzensiz sınırlı peritümöral nodüller vasküler invazyon olarak nitelendirilmelidir ve T kategorisine alınmalıdır. Bununla beraber venöz invazyon göstergesi olarak V1 (mikroskopik) veya V2 (makroskopik) olarak kodlanmalıdır.

Bazı otörler 2 mm'den küçük metastazları mikrometastaz olarak kabul etme eğilimi içindedirler. Ancak ilgili prognostik bilgi halen yeterli değildir. Bu vakalar günümüzde halen N1 olarak değerlendirilmektedir. Birkaç çalışmada primer

tümörden uzak lenf düğümü metastazları daha kötü bir klinik gidişle ilişkili bulunmuştur (9).

Tablo 2. "Dukes" Evrelemesi (3).

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

Tablo 3. Astler-Coller Evrelemesi (3).

Evre A	Tümör mukozada sınırlı
Evre B1	Tümör submukozaya sınırlı, lenf düğümü tutulumu yok
Evre B2	Tümör kas tabakasına sınırlı, lenf düğümü tutulumu yok
Evre C1	Tümör bağırsak duvarını aşmadığı halde lenf düğümü tutulumu mevcut
Evre C2	Tümör bağırsak duvarını aşmış ve lenf düğümü tutulumu mevcut
Evre D	Uzak metastaz mevcut

TNM Evrelemesi (AJCC/UICC):

T= Primer tümör

T_x: Primer tümör değerlendirilemedi

T0: Primer tümör yok

Tis: Karsinoma insitu

T1: Tümör submukozaya invaze

T2: Tümör muskularis propriaya invaze

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

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

T4a: Tümör visseral peritonu perforare etmiş

T4b: Tümör komşu organ ya da yapılara invaze

N= Bölgesel lenf düğümleri

NX: Bölgesel lenf düğümü değerlendirilemedi

N0: Lenf düğümü metastazı yok

N1: 1-3 lenf düğümü tutulumu mevcut

N1a: 1 bölgesel lenf düğümü metastazı

N1b: 2-3 bölgesel lenf düğümü metastazı

N1c: Lenf düğümü metastazı olmaksızın nonperitonealize perikolik/perirektal yumuşak dokuda veya subserozada tümör depozitleri

N2: 4 veya daha fazla lenf düğümü tutulumu mevcut

N2a: 4-6 bölgesel lenf düğümü metastazı

N2b: 7 veya daha fazla bölgesel lenf düğümü metastazı

M= Uzak metastaz

MX: Uzak metastaz değerlendirilememekte

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz mevcut

M1a: Bir organla sınırlı metastaz

M1b: Birden fazla organ veya periton metastazı

Tablo 4. Kolorektal tümörlerde TNM evrelemesi (2).

Evre 0	T _{is}	N0	M0
Evre 1	T1, T2	N0	M0
Evre 2A	T3	N0	M0
Evre 2B	T4a	N0	M0
Evre 2C	T4b	N0	M0
Evre 3A	T1, T2	N1	M0
Evre 3B	T1	N2a	M0
	T3, T4a	N1	M0
	T2, T3	N2a	M0
Evre 3C	T1, T2	N2b	M0
	T4a	N2a	M0
	T3, T4a	N2b	M0
Evre 4a	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M0
			M1a
Evre 4b	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1b

1.2.10. Dereceleme

Kolorektal adenokarsinomlar mikroskopik olarak glandüler yapılarının niteliğine göre iyi, orta, az ve indiferansiye şeklinde derecelendirilir. Kolorektal karsinomlar Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Amerikan Kanser Komitesi (AJCC) tarafından onaylanan dereceleme sistemleri tümörün solid komponent oranı esasına dayanır (4, 9) (Tablo 5). Bu sistemin uygulanmasıyla kolorektal adenokarsinomların %25'i iyi diferansiye, %60'ı orta derecede diferansiye ve %15'ide az diferansiye olduğu izlenmiştir (36). Derecenin bağımsız bir prognostik parametre olup olmadığı konusunda tartışmalar mevcuttur. Yaklaşık 80.000 kolorektal CA hastasını içeren geniş çaplı bir çalışmada 5 yıllık sağkalım sürelerinin iyi ve orta diferansiye tümörlerde sırasıyla % 51 ve %59'ken, az diferansiye tümörlerde % 39 olduğu gösterilmiştir (75). Bu tespitlerin de etkisiyle AJCC tarafından ikili bir dereceleme sistemi önerilmiştir. Bu dereceleme sistemine göre kolorektal karsinomlar düşük dereceli ve yüksek dereceli olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Tablo 5). İyi diferansiye ve orta derecede diferansiye karsinomlar olarak adlandırdığımız grup bu sınıflamaya göre düşük dereceli karsinom kategorisinde yer almaktadır ve kural olarak da %50 ve üzerinde gland formasyonu bulunması esas alınmaktadır. Gland formasyonunun %50'nin altında izlendiği karsinomlar (az diferansiye karsinomlar) ise yüksek dereceli karsinomlar olarak adlandırılmaktadır (9).

İndiferansiye adenokarsinom tezat bir tanım olup bunun yerine gland formasyonu veya müsin üretimi göstermeyen; nöroendokrin, skuamöz veya sarkomatoid diferansiyasyon bulundurmayan epitel tümörler için indiferansiye karsinom kelimesi kullanılmaktadır.

Kolorektal karsinomların derecelenmesi yalnızca olağan tipte adenokarsinoma uygulanmaktadır. Tanım olarak taşlı yüzük hücreli karsinomlar ve küçük hücreli karsinomlar az diferansiye karsinomlar olarak kabul edilir. Bazı gruplara göre müsinöz karsinomlar da az diferansiye karsinom grubunda yer alırlar.

Bir karsinom diferansiyasyon açısından heterojen ise dereceleme az diferansiye komponent göz önüne alınarak yapılmalı, ancak invazyon alanı hesaba katılmamalıdır. Ayrıca genel olarak tümörlerin perifer ve derin kısımları daha yüzeysel kısımlarına göre daha az diferansiyedir ki bu da bu kısımların daha agresif

olduğunu düşündürür. Az diferansiye küçük bir odağın bulunması tümörü ‘az diferansiye’ olarak sınıflamak için yeterli değildir (4, 9).

Tablo 5. Kolorektal karsinomların dereceleme sistemi

Derece	Açıklama	Kriterler	AJCC Önerisi
GX	Derece belirlenemiyor		
G1	İyi diferansiye	>%95 gland formasyonu Glandların çoğu (>%75) düzenli Yüksek dereceli nükleus özellikleri yok	Düşük derece
G2	Orta derece diferansiye	%50-95 gland formasyonu	Düşük derece
G3	Az diferansiye	<%50 gland formasyonu	Yüksek derece
G4	İndiferansiye	Gland formasyonu belirgin değil	Yüksek derece

1.2.11. Yayılım ve Metastaz

Tüm kolon tümörleri doğrudan komşu yapılara, lenfatikler ve kan damarları yoluyla uzak organlara metastaz gösterebilir. Hastalığın erken evresinde lenfatikler veya kan damarları yoluyla lenf düğümü tutulumu ve sistemik hastalık oluşabilir. Oluşturacağı sonuçlar anatomik lokalizasyona bağlıdır. Kolon karsinomları peritoneal boşluk içerisinde transçöломik yayılım ile direkt serozal yüzeye ulaşabilir. Ayrıca cerrahinin bir komplikasyonu olarak da nadiren tümör implantasyonu gerçekleşebilir (4).

Kolon karsinomunun en sık metastaz yaptığı bölgeler, bölgesel lenf nodları ve karaciğerdir. Lenf nodu metastazı varlığında tümörün lenf nodu kapsülünü aşıp venlere invazyon yapıp yapmadığı önemlidir. Nispeten sık metastaz görülen diğer alanlar periton, akciğer ve overlerdir. Daha nadir metastazlar ise merkezi sinir sistemi, kemik, testisler, uterus ve oral kavitede görülmektedir (6).

Kolorektal karsinomlu hastaların yaklaşık %15-25’inde tanı anında karaciğer metastazı bulunmaktadır. Primer tümörün tedavisi sonrasında da %20 oranında metastaz görülmektedir. Karaciğer metastazının tespitinden sonra tedavisiz sağ kalım ortalama 9 aydır. Karaciğer metastazı çıkarılan hastaların sonuçlarının iyileştiği ve 5 yıllık sağ kalımın %35-40 olduğu görülmüştür (9).

1.2.12. Tedavi

1.2.12.1. Kolon Rezeksiyonu

Kolon adenokarsinomunun primer tedavisi tümörlü bağırsak anasının cerrahi olarak çıkartılmasıdır. Cerrahinin tipi tümörün yerine, genişliğine, anatomisine ve lenfatik drenajına göre planlanmaktadır. Çıkan kolon ve çekum tümörleri ileokolektomi ile tedavi edilmektedir. Peritoneal refleksiyonun altındakilere abdominoperineal rezeksiyon uygulanmaktadır. Kalın bağırsağın diğer bölgelerinden kaynaklanan tümörlere ise anterior rezeksiyon yapılmaktadır. Ayrıca ana cerrahiye ek olarak da bölgesel lenf düğümü çıkarılmaktadır. Lenfadenektomi sadece evreleme için gerekli olmayıp tedavi prosedüründe de yer almaktadır. Peritoneal yayılım, batında asit varlığı, çok sayıda hepatik metastaz varlığı ve çok sayıda pulmoner metastaz varlığında palyatif cerrahi tedavi yapılır.

Preoperatif kolonoskopi kolorektal kanserli hastalarda cerrahinin planlanması ve senkronize diğer neoplazmların tespiti için oldukça önem taşımaktadır. Subtotal kolektomi özellikle polipozis sendromu, HNPCC ve senkronize kolon kanserlerindeki tedavi yöntemidir (36).

1.2.12.2. Laparoskopik kolektomi

Laparoskopik yaklaşım hasta konforunu ve cerrahi stresi azaltan bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda laparoskopik kolektominin güvenli ve açık kolektomi kadar etkili olduğu bildirilmiştir. Ancak ileri evre lezyonlardaki etkinliği ve uygulanabilirliği tartışmalıdır (36).

1.2.12.3. Metastatik Lezyonların Çıkarılması

Kolorektal karsinomlarda soliter akciğer ve karaciğer küratif cerrahi rezeksiyon yapılması doğru bir yaklaşımdır. Karaciğer rezeksiyonu birleşik devletlerde en sık yapılan karaciğer cerrahisidir. Ancak metastaz bulunan hastaların sadece %8-27'si cerrahi için uygundur. Sağ kalım, hastanın yaşı, en büyük metastazın boyutu, CEA (Karsinoembriyojenik Antijen) düzeyleri, primer tümörün evresi, hastaliksız süreç, karaciğerdeki nodüllerin sayısı ve rezeksiyonun cerrahi sınırları ile ilişki göstermektedir (36).

1.2.12.4. Evrelere Göre Kolon Kanserlerinde Tedavi Yaklaşımı

Evre 0 kolon kanserinin yüzeysel olmasından dolayı lokal eksizyon yapılır. Evre I ve II kolon kanseri tedavisinde geniş cerrahi rezeksiyon önerilmektedir. Çoğu hastada adjuvan kemoterapi endikasyonu yoktur. Ancak yüksek risk grubundaki hastalarda nüks riski mevcuttur (76). Tek başına cerrahi uygulananlar ile cerrahi ile kombine adjuvan 5-Florourasil (5-FU) tedavisi alan hastalar arasında sağkalım açısından fark bulunamamıştır (77). Bazı çalışmalarda ise sadece cerrahi uygulananlar ile adjuvan kemoterapi uygulananlar karşılaştırıldığında hastaliksız ve genel sağkalım açısından fark bulunmasına rağmen evre II kolon kanserinde adjuvan kemoterapi konusunda farklı görüşler vardır (78). Çok merkezli Avrupa kökenli bir çalışmada perioral kullanılan bir kemoterapi ajanı olan kapesitabin ile 5-FU-lökovorin tedavisi karşılaştırılmış ve her ikisinde eşit etkinlikte olduğu gösterilmiştir (79). Evre III kolon kanserinde önerilen tedavi geniş cerrahi rezeksiyon ve adjuvan kemoterapi uygulanmasıdır. Evre IV hastalıkta ise tedavide ana seçenek palyatif amaçlı sistemik kemoterapi kullanımınıdır. Prospektif çalışmalar metastatik hastalıkta kemoterapinin kullanımının yalnızca destek tedavisine göre hayat kalitesini artırdığını ve sağkalımı uzattığını göstermiştir (7).

1.2.13. Hedefe Yönelik Tedavi Yaklaşımları

Hedefe yönelik tedavide amaç, moleküler defekti olan tümör hücrelerine yönelerek tümör hücrelerini hedef hücre aracılığıyla öldürmek ve normal hücrelerin devamını sağlamaktır. Bu nedenle, hedefe yönelik tedavilerin en önemli üstünlüğü terapötik indekslerinin yüksek olmasıdır. Hedefe yönelik tedavide, hedeflenecek hücresel komponentler, hücre membran reseptörleri, sinyal iletim yolları, hücre siklus ajanları, anjiyogenez inhibitörleri, hücre-matriks veya protein reseptörleridir.

Hedefe yönelik tedavide, uygun hastaları belirleyebilmek için tümöre özgü bazı moleküler belirteçler kullanılmaktadır. Hedefe yönelik tedavinin meme kanseri, akciğer kanseri gibi morbidite ve mortalitesi olan tümör gruplarında tümör tedavisinde ve prognostik değerlendirmelerde giderek yaygınlaştığı düşünüldüğünde, kolorektal karsinomlarda da tedavi seçimini yönlendirecek moleküler belirteçlerin kullanımı ve olguların buna göre sınıflandırılması son derece önemli ve gereklidir. Kolorektal kanser tedavisinde son yıllarda kullanılmaya başlanan anti-EGFR tedavisi de hedefe yönelik ve bireysel temelli bir tedavi örneğidir.

1.2.13.1. Kolorektal Kanserde Anti-EGFR Tedavi

Kolorektal kanserde EGFR hedefli ilaçlar, EGFR reseptörünün etki alanını engelleyecek şekilde geliştirilmiştir. Son yıllarda geliştirilen EGFR'in spesifik blokörlerinin önemli endikasyonlarından biri metastatik kolorektal kanserlerdir.

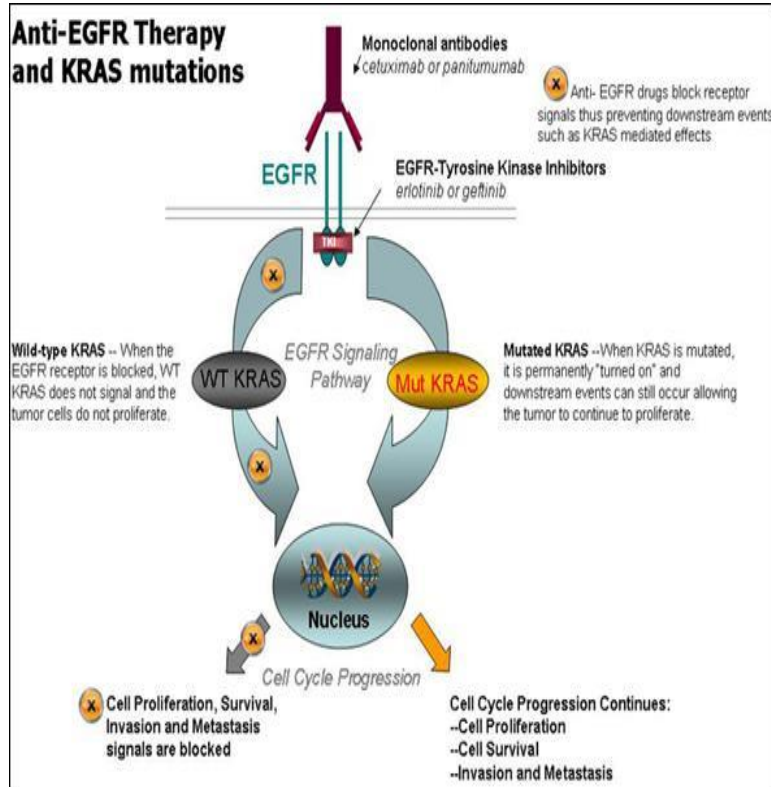
Tümör oluşumu ve kanserin ilerleyişinde EGFR'in rolü anlaşıldığından beri bu reseptöre özgü geliştirilen antikorlar, yeni ve umut verici bir hedef haline gelmiştir. Yapılan çalışmalar, EGFR blokajı ile sinyalin kesilmesinin tümör hücrelerinde büyümenin inhibisyonuna neden olduğunu ve kanserli hastalarda potansiyel iyileşme sağlanabildiğini göstermiştir (16, 80).

Hücre yüzey reseptörlerinde bağlanma ya da modülasyon olmaksızın EGFR sinyal yollarının aktivasyonu kontrolsüz hücre büyümesi, proliferasyon, apoptozun baskılanması, angiogenезin uyarılması ve metastatik yayılım gibi sonuçlar doğurabilir. Bu nedenle EGFR ve EGFR'in "downstream" yollarında yer alan diğer moleküller (RAS ve RAF proteinleri gibi) de malign transformasyonun regülasyonunda temel rol oynamaktadır (80). Kolorektal kanserde, EGFR ilişkili sinyal ara yolları için potansiyel belirteçler KRAS, BRAF ve PIK3CA (Phosphatidylinositol-4, 5-Biphosphate 3 Kinase Catalytic Subunit Alpha) gen mutasyonları ile PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog) gen ekspresyonu olarak kabul edilmektedir.

EGFR ile uyarılan hücre sinyali iletiminin "downstream" fonksiyonu olan ve RAS-MAPK sinyal ara yolunun en önemli moleküllerinden biri olan RAS proteini, aktif guanozin trifosfata bağlı durum ile inaktif guanozin difosfata bağlı durum arasında değişim gösteren bir sinyal iletim molekülüdür. RAS proteininin aktif duruma geçmesi için EGFR dimerinin oluşması gerekir. RAS protein ailesine ait olan G proteini, birkaç sinyal kaskadı aracılığıyla hücre yüzey reseptörlerinden hücre içi hedeflere doğru sinyal iletim bağlantısını sağlar. Hücre bölünmesi gerçekleştikten sonra, EGF ligandı EGFR'den ayrılır ve RAS proteini inaktif hale geçer. Böylece sinyal iletimi de durdurulmuş olur. Ancak RAS geninde mutasyon olması durumunda, RAS proteini aktif halde kalır ve hücre yüzeyinden gelen sinyalleri hücre çekirdeğine EGFR'den bağımsız olarak iletmeye devam eder (58, 81).

Kolorektal kanser hastaları için tedaviye ilişkin kararlarda KRAS mutasyon durumu dikkate değer bir role sahiptir. EGFR hedefli ajanların moleküler temeli

dikkate alındığında, KRAS mutasyonlu tümörlerde, reseptör seviyesinde EGFR blokajı, sinyal aktivasyonunu durduramaz. Çünkü aktif RAS proteini EGFR'den bağımsız olarak sinyal aktivasyonunu sağlar. Bu nedenle hastaya anti-EGFR tedavi uygulanmadan önce KRAS mutasyon analizi yapılmakta ve KRAS geni wild tip olan (mutasyon taşımayan) tümörler, tedaviye uygun aday olgular olarak kabul edilmektedir (82) (Şekil 3).



Şekil 3. Kolorektal kanserde anti-EGFR tedavi ve KRAS mutasyonu (90)

Anti-EGFR tedavi ile metastatik kolorektal kanserlerde yaşam süresinin 23,5 aya dek uzatılabildiği gösterilmiştir. Bugün için, iki anti-EGFR antikoru (Cetuximab, Panitumumab) kolorektal kanserin tedavisinde kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanmıştır. Fakat Cetuximab ve Panitumumab tedavileri oldukça pahalı ve yan etkileri olan tedavi yöntemleridir (83). Bu nedenle hastaya anti-EGFR tedavi uygulanmadan önce KRAS mutasyon analizi yapılmakta ve KRAS geni wild tip olan (mutasyon taşımayan) tümörler, tedaviye uygun aday olgular olarak kabul edilmektedir. Ancak, KRAS wild tip olan olguların yalnızca 1/3'ü EGFR inhibisyon tedavisine yanıt vermektedir (82).

1.2.14. Prognostik Parametreler

Kolorektal karsinomlarda tanımlanmış birçok prognostik faktör bulunmaktadır (Tablo 6). Günümüzde kolorektal karsinomda prognozu belirleyen en önemli parametre, cerrahi sonrası yapılan Tümör – Lenf düğümü – Metastaz (TNM) evrelemesidir. Beş yıllık sağ kalım lokal hastalıkta %91,8, bölgesel hastalıkta %65,8 ve uzak metastazlı hastalıkta ise %8,8'dir.

1.2.14.1. Tümör Evresi

Kolorektal karsinomda en önemli prognostik faktör bağırsak duvarının tümör ile infiltrasyonunun derecesi, tutulan lenf bezi sayısı ve uzak organ metastazının bulunmasıdır (4, 36). Örneklemeler tümörün en kalın olduğu yerden tüm kat boyunca yapılmalıdır. Yapılan çalışmalarda pozitif lenf düğümü sayısının sağ kalımın en önemli göstergesi olduğu gösterilmiştir (36). İlginç olarak, nodal tutulumu olmayan hastalar için bile analiz edilen lenf nodlarının sayısı prognostik bilgi sağlamaktadır. Temel kitaplar rezeksiyon edilen örnekte 12 ya da fazla lenf nodunun incelenmesini önermektedir. Çünkü daha az bölgesel lenf nodunun incelenmesi kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. 1-7 lenf nodu rezeksiyonu yapılan hastalarla karşılaştırıldığında, 8-12 ya da 13'ten fazla lenf nodu eksize edilen hastalarda ölüm riski %19-32 daha düşük saptanmıştır (84).

1.2.14.2. Histolojik Derece ve Tip

Önemli diğer prognostik parametre tümörün diferansiasyonu ve tipidir. Tümör invazyon derinliğine bakılmaksızın az diferansiye adenokarsinomların yarısından fazlası lenf düğümü tutulumu ile ilişkilidir. Aksine iyi ve orta derecede diferansiye adenokarsinomlarda lenf düğümü metastazı daha azdır. Derece aynı zamanda venöz ve lokal yayılımla olduğu gibi bağırsak perforasyonu ile de korelasyon göstermektedir (36). Yaklaşık 80.000 kolorektal CA hastasını içeren geniş çaplı bir çalışmada 5 yıllık sağkalım sürelerinin iyi ve orta diferansiye tümörlerde sırasıyla %51 ve %59'ken, az diferansiye tümörlerde %39 olduğu gösterilmiştir. Müsinöz histoloji kötü diferansiye kabul edilir ve iyi-orta diferansiye adenokarsinomlardan daha kötü sonuçlara sahiptir (85).

Tablo 6. Kolorektal karsinomlarda prognostik faktörler.

Patolojik Faktörler
<ul style="list-style-type: none">• Tümör evresi• Karsinomun invazyon genişliği• Lenf düğümü metastazı• Metastazlı lenf düğümü sayısı• Uzak metastaz• Karsinomun tipi• Karsinomun büyüme paterni• Cerrahi sınırlar• İnvaziv alanın natürü• Karsinomun diferansiasyon derecesi• Vasküler tutulum• Perinöral invazyon• Serozal tutulum• İntraperitoneal yayılım• İnflamatuvar yanıt• Lenf düğümü reaksiyonu• Tümör lokalizasyonu• Fibrozis• Karsinomun boyutu ve şekli• Proliferasyon durumu• DNA ploidi• Cerrahinin boyutları
Klinik Faktörler
<ul style="list-style-type: none">• Yaş• Cinsiyet• Semptomlar ve süresi• Obstrüksiyon veya perforasyon varlığı• Serum CEA düzeyleri

1.2.14.3. Tümör Lokalizasyonu

Sağ tarafa yerleşen tümörlerin sola yerleşen tümörlerden daha kötü prognoz gösterdikleri ileri sürülmüştür. Ancak bazı çalışmalarda da solda yerleşim gösterenlerin daha kötü prognoz sergiledikleri bildirilmiştir. Birkaç çalışmada ise primer tümör lokalizasyonun prognostik önemi olmadığı gösterilmiştir (86). Geç rekürrenslerin büyük çoğunluğu aynı zamanda çıkan kolon, sigmoid kolon ve rektumda izlenir (36).

1.2.14.4. Büyüme Paterni

Polipoid veya saplı ekzofitik lezyonların aksine ülser karsinomlar daha kötü prognoza sahiptir ve daha sık lokal yayılım ya da uzak metastaz gösterirler. Ekzofitik

tümörler ülserle tümörlere kıyasla daha az oranda mural invazyon yapmaktadırlar. Ayrıca hematojen yolla yayılım ekzofitik tümörlerde daha az görülmektedir (36).

1.2.14.5. Cerrahi Sınırlar

Bazı tümörler lateral yayılım gösterdiğinden cerrahi sınırlar kolon tümörlerinde oldukça önem taşımaktadır. Cerrahi sınırdaki kalan rezidüel bir tümör lokal rekürrensini nedeni olacaktır. Yapılan bir çalışmada cerrahi sınıra 5 cm mesafeden uzak olan tümörlerde lokal rekürrens oranının %9, daha yakın olan tümörlerde ise %43 olduğu bildirilmiştir (87).

1.2.14.6. Lenfatik İnvazyon

Kötü prognozla ilgili histolojik bulgudur. Lenfatik tutulumun derecesi daha düşük sağ kalım ile ilişkili olup tümörün evre ve derecesini arttırmaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda lenfatik invazyonun sağ kalım için bağımsız risk faktörü olduğu gösterilmiştir (36).

1.2.14.7. Venöz İnvazyon

Bu terim endotel ile çevrili damarda tümör hücresinin görülmesini tanımlamaktadır. Kan damarı invazyon insidansı tümör derecesi ve evresi ile birlikte artış göstermektedir. Vasküler invazyonu olan hastalarda sağ kalımda belirgin düşüş izlenmektedir. Evre II kolon kanserinde yüksek riski belirlemede klinik olarak kullanışlı bir parametredir (36).

1.2.14.8. Perinöral İnvazyon

Perinöral invazyon insidansı evre III tümörlerde anlamlı bir şekilde artış göstermektedir. Ancak yapılan çok yönlü analizlerde perinöral invazyonun prognostik öneminin yeterli düzeyde olmadığı görülmüştür (86).

1.2.14.9. Obstrüksiyon ve Perforasyon

Obstrüksiyon ve perforasyon ile komplike olan kolorektal kanserlerin daha kötü bir prognoz sergiledikleri kabul edilmektedir (36). Yapılan bir retrospektif değerlendirmede kolon karsinomlu hastalarda gelişen obstrüksiyonun 5 yıllık sağkalım %31 iken aynı evredeki hastalarda sağkalım %59 olarak saptanmıştır

Lokalize perforasyon gelişen hastalarda 5 yıllık sağkalım %44 olarak saptanmıştır (86).

1.2.14.10. İnvaziv Alanın Natürü

İnvaziv alanın yapısı bağımsız bir prognositik faktördür. İtici yapıda olan tümörlerde prognoz infiltratif olan tümörlere göre oldukça iyidir. Düzensiz sınırlara sahip, inflamatuvar reaksiyon bulunmayan, desmoplazi gösteren tümörler daha kötü prognozludur (36).

1.2.14.11. Karsinoembriojenik Antijen (CEA)

Karsinoembriojenik antijenin (CEA) preoperatif yüksek seviyesi kanser rekürrensi için kötü bir prognositik faktördür. Preoperatif CEA seviyesi yüksek olan hastalarda cerrahi sonrası normale gelmemişse risk artmaktadır. Preoperatif CEA seviyesinin prognostik öneminin olduğu göz önüne alındığında, operasyon öncesi serum CEA düzeyinin ölçülmesi önerilmektedir (86).

1.2.14.12. Crohn Benzeri Lenfoid Reaksiyon

İnvaziv karsinomlu hastalarda muskularis propriada veya perikolik fibroadipoz doku içerisinde lenfoid agregatların varlığı şeklinde tarif edilen bu lezyon iyi prognoz göstergesidir (36).

1.2.14.13. Peritoneal ve serozal yayılım

Lokal peritoneal yayılım, intraperitoneal veya pelvik rekürrensin güçlü bir göstergesidir. TNM sınıflaması da dâhil birçok sınıflama sistemi serozal tutulumu prognostik faktör olarak değerlendirmektedir (36).

1.3. KRAS Gen Mutasyonunun Önemi

Moleküler biyolojideki hızlı gelişmeler hastalıkların fizyopatolojilerin daha ayrıntılı olarak ortaya konulmasını sağlamıştır. Kolon kanserleri genetik mekanizması en iyi tanımlanmış kanserlerden biridir. Kolon kanseri gelişiminde rol alan genetik mekanizmaların ortaya konması hastalığın erken tanısı, prognozun belirlenmesi ve buna uygun ilave tedavilerin uygulanmasında moleküler birer belirteç olarak kullanılmasını sağlayacaktır. Moleküler temellerin bilinmesi hastalığın kliniği açısından önemli ipuçları vermektedir.

Kolorektal kanser hastaları için tedaviye ilişkin kararlarda RAS mutasyon durumu dikkate değer bir role sahiptir. Kanselerdeki RAS mutasyonlarının %90'ı KRAS geninde ortaya çıkar. KRAS 12. kromozomun kısa kolu üzerinde hücre membranı ve sitoplazma yerleşimli olan ve intrasellüler sinyal üretimde yer alan G proteini ile ilişkili bir gendir (66). KRAS mutasyonlarının çoğu kodon 12, 13, 59 ve 61'de tanımlanmıştır (67).

KRAS geninin ürünü 21 kDa ağırlığında GTP/GDP bağlayıcı proteindir. Bu protein hücre membranının iç kısmına yerleşmiş olup GTP bağımlı sinyal iletimi, hücre büyümesinin kontrolü, farklılaşması ve yaşam döngüsü ile ilişkilidir (68). KRAS geninin mutasyonu bu sinyal yolağının yapısal aktivasyonu ile sonuçlanır ve bunun sonucunda da düzensiz proliferasyon ve bozulmuş diferansiasyon oluşur (69).

Kolorektal karsinomlardaki gözlenen en yaygın mutasyonların KRAS geninin 12. ve 13. kodonları üzerinde olduğu bilinmektedir. Bu değişimler kolorektal kanserlerin gelişimi sürecinde erken evrede ortaya çıkmaktadır. KRAS genindeki mutasyonların, kolorektal karsinogenez sürecinin erken döneminde görüldüğü belirtilmektedir. RAS mutasyonları adenom gelişimde erken evrelerden çok orta evrelerde oluşur. Küçük adenomlardan çok büyük adenomlarda siktir. RAS mutasyonları genellikle APC mutasyonlarını takip eder. KRAS mutasyonları sporadik adenomlarda daha siktir. KRAS mutasyonları 1cm'den küçük adenomlarda %10-15, 1 cm'den büyük adenomlarda %30-60 oranında görülürken kolorektal karsinomlarda %21-65 oranında izlenir (36).

Kodon 12 ve 13'teki KRAS mutasyon sıklığı, tekrarlayan hastalığı olmayanlarda %25, tekrarlayan tümörü olanlarda ise %71'dir. Guanin→Trozin ve Guanin→Sitozin transversiyon kolorektal karsinomların metastatik davranışıyla ilişkili bulunmuştur.

Tümör evresi arttıkça çoklu mutasyonların sıklığı da artar. Hematojen veya lenfatik metastazı olan tümörler, bu özellikleri taşımayan tümörlerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek (%65) mutasyon oranına sahiptir.

Mutant RAS varlığı hastaların kemoterapiye dirençli olabileceğini gösterir. Çeşitli hedef moleküllere yönelik monoklonal antikorlar kanser tedavisinde günümüzün en etkin araçları arasına girmiştir. Kolorektal kanseri tedavisinde en son varılan nokta ise moleküler olarak hedeflendirilmiş tedavidir. Bir tirozin kinaz

reseptörü olan EGFR, kolorektal kanser hücrelerinin büyüme ve sağkalımları ile ilişkili yolların önemli bir düzenleyicisidir. EGFR hedefli ajanların moleküler temeli dikkate alındığında, KRAS mutasyonlu tümörlerde, reseptör seviyesinde EGFR blokajı, sinyal aktivasyonunu durduramaz. Çünkü aktif RAS proteini EGFR'den bağımsız olarak sinyal aktivasyonunu sağlar (82). KRAS geninin 12. ve 13. Kodonda mutasyon olması durumunda EGFR'yi hedefleyen ajanların tedavisine yanıt vermedikleri faz 3 çalışmalarında gösterilmiştir (15).

İnsanlarda görülen tüm tümörlerin %17-25'inde kolorektal kanserlerin ise %30-40'ında KRAS gen mutasyonu bulunduğundan KRAS mutasyon analizi yapılmakta ve KRAS geni wild tip olan (mutasyon taşımayan) tümörler, tedaviye uygun aday olgular olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle mutasyon analizi önemli hale gelmektedir (15, 16, 82).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Grubu

Fırat Üniversitesi Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı Arşivinde bulunan 1996 – 2014 yılları arasında tanı almış 60 adet lenf nodu metastazlı ve 60 adet lenf nodu metastazı olmayan toplam 120 adet orta derecede diferansiye kolon adenokarsinom olgusu ışık mikroskopunda tanıları doğrulanıp çalışmaya dâhil edildi. Çalışma hasta hakları yönetmeliği ve etik kurallara uygun olarak planlandı. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığının 28.01.14 tarih ve 06 nolu kararıyla çalışmaya başlandı.

2.2. Mutasyonların Tayininde Kullanılan Gereçler

- Agaroz Jel Elektroforez Güç Kaynağı, Agaroz Jel Tankı ve Düzeneği (Consort N.V. Parklaan 36 B-2300 Turnhout, Belgium),
- Ependorf Mastercycler Gradient (Netheler Mlnz GmbH, 23331 Hamburg, Germany),
- UV lambası ve ilgili okuma, kaydetme, fotoğraflama ünitesi (TCP-20-M, Vilber Lourmat, Cedex, France),
- Otomatik Mikropipetler, Ependorf (France),
- Soğutmalı Mikrosantrifüj (Ole Dich Instrumentmakers APS, type 157.MP, Germany),
- Elektronik Hassas Terazi (Shimadzu Corporation Libror AEG-320, Japan),
- Etüv Nüve (NP 400, Türkiye),
- Elektro-Mag (Türkiye),
- Ph metre (Hana Instruments HI8521 pH meter, Italy),
- Otoklav Nüve (Türkiye),
- Buzdolabı Arçelik (Türkiye),
- Derin Dondurucu –20 °C, Uğur (Türkiye),
- Su Banyosu (Kötterman labortechnic type 3643, Germany),
- Vorteks (Labinco L46, The Netherlands)

2.3. Mutasyonların Tayininde Kullanılan Kimyasallar

- Borik asit (Merck, Frankfurt, Germany),
- EDTA (Sigma, Germany),
- Tris HCL (Sigma, Germany),
- Etidium Bromüd (Sigma, Germany),
- Fikol (Serva, Germany),
- Bromofenol Mavisi (Sigma, Germany),
- Ksilen Siyanol (Sigma, Germany),
- Mutlak Etanol (Kimetsan, Türkiye),
- 100 bç'lik DNA boyur markırı (Fermentas, Litvanya),
- Agaroz (Sigma, Germany)

2.4. Mutasyonların Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- **Agaroz jel yükleme tamponu (6X):** %15 fikol, %0.05 bromofenol mavi, %0.05 ksilen siyanol
- **Tris-borik asit-EDTA tamponu (TBE) (10 X) (1L):** 108 g Tris HCl, 55 g Borik asit, 20 ml 0,5 M EDTA, 1000 ml ddH₂O ile tamamlanır.
- **EDTA Çözeltisi (0,5 M, 50 ml):** 18.6 gr EDTA tartılır. pH=8.0'e EDTA çözülmüncye kadar NaOH eklenerek ayarlanır.
- **Etidium bromüd (EtBr) çözeltisi (10mg/ml):** 10mg EtBr tartılır, üzerine 1 ml ddH₂O eklenir. Karanlıkta +4°C'de saklanır.

2.5. Parafin Bloklardan Dna İzolasyon İşlemi

2.5.1. Kullanılan Solüsyon ve Gereçler

- 1.5 ml'lik tüpler (Axygen scientific MCT-150-A),
- 100 ve 1000 µl'lik pipet (Ependorf research series 2100 pipettes, Germany),
- Pipet uçları (Deltalab 327-17),
- Mikrosantrifüj,
- Vorteks,
- İzopropil alkol,
- % 70'lik etil alkol

2.5.2. İzolasyon Aşamaları

Eppendorf tüplere konulan 5-6 adet 20 µm'lik kesitler 65°C'deki ısı bloğunda 1 saat bekletildikten sonra üzerine 1000 µl ksilol konularak 65°C'de 5 dk. bekletildi. 14.000 rpm (dakikadaki devir sayısı)'de 2 dk. santrifüj yapıldıktan sonra süpernatant kısım atıldı. Bu işlemler 3 kez tekrar edildi. Ardından eppendorflara 1000 µl %100'lük etanol ilave edilerek etüvde 37°C'de 15 dakika bekletildi. 14.000 rpm'de 2 dk. santrifüj yapıldıktan sonra süpernatant kısım atıldı. Eppendorflara 1000 µl %70'lik etanol ilave edildikten sonra vorteks yapılarak etüvde 37°C'de 15 dakika bekletildi. 14.000 rpm 2 dk. santrifüj yapılarak süpernatant kısım atıldı. Eppendorflara 1000 µl %50'lik etanol eklenerek vorteks yapıldı ve etüvde 37°C'de 15 dk bekletildi. 14.000 rpm 2 dk. santrifüj yapıldı ve süpernatant kısım atıldı. Eppendorflara; 500 µl lizis solüsyonu (50µl Proteinaz K (20 mg/ml)), 10µl Tris-HCl solüsyonu (1M), 2µl EDTA (0,5M), 100 µl SDS (%10), 838 ml distile su ilave edildi. 37°C'de su banyosunda 1 gece bekletilen örneklerin oda ısısına düşmesi sağlandı. Eppendorflara 500 µl fenol-kloroform eklenerek 15 saniye vorteks yapıldı. 12.000 rpm'de 10 dk. +4 °C'de santrifüj edildi. Üstte kalan faz yeni tüplere aktarıldı ve alınan faz miktarı kadar kloroform eklenerek vorteks yapıldı. 12.000 rpm'de 5 dk santrifüjün ardından süpernatant faz yeni eppendorfa aktarıldı ve 1/10'u kadar protein çöktürme solüsyonu eklendi. Vortex yapıldı ve üzerine 500 µl izopropil alkol eklenerek -20°C'de 1 gece beklemeye alındı. 13.500 rpm'de 15 dk. +4°C'de santrifüj edilip üst faz atılarak %75'lik etil alkol ile yıkama yapıldı. Tüpler altüst edildi. 13.500 rpm'de 15 dk. +4°C'de santrifüj edildi. Etanol giderildikten sonra DNA çökeltisinin büyüklüğüne göre 15-130 µl RNase free water eklendi ve 65°C' de 15 dk ısı bloğunda bekletildi.

2.5.3. DNA Konsantrasyonu ve Saflık Derecesinin Ölçülmesi

DNA konsantrasyonu ve saflık derecesinin belirlenmesi UV spektrofotometresi ile yapılabilmektedir. DNA örneğinin içerisinde bulunduğu solüsyon tarafından absorbe edilen UV miktarı örnekteki DNA miktarı ile doğru orantılıdır. Absorbans genellikle 260 nm dalga boyunda ölçülür. Bu dalga boyundaki ölçümlerde çift iplikli DNA için absorbans değeri 50 µg/ml'lik konsantrasyon değerlerine karşılık gelir. UV absorbansı DNA'nın saflığının belirlenmesinde de kullanılabilir (260 nm'de nükleik asitler, 280 nm'de de proteinler pik verir). Saf bir DNA örneğinin 260 ve 280 nm'deki absorbans oranı (A_{260nm}/ A_{280nm}) 1,8'dir. Bu

değer elimizdeki DNA örneğinin verimini gösterir. Dolayısıyla bulduğumuz değer 1,8'e ne kadar yakınsa verim o kadar yüksektir. Bulunan değerler 1,8'den düşükse örnekte fenol ya da protein kontaminasyonu, değerler 1,8'den büyükse RNA kontaminasyonu varlığını gösterir. Hasta ve kontrol grubuna ait DNA örnekleri ölçülerek konsantrasyonları ve saflıkları belirlendi ve 1,8'e yakın olmayan değerlere sahip örneklerin DNA'ları tekrar izole edildi.

2.6. PZR Çalışması

2.6.1. PZR Materyalleri

Taq DNA polimeraz (5U/µl)	Fermentas EP0402
10XPZR buffer (10mM)	Fermentas EP0402
MgCl ₂ (25mM)	Fermentas EP0402
100mM dNTP set	Fermentas R0186
Primerler	İontek, İstanbul, Türkiye

2.6.2. Mutasyonların Belirlenmesi

2.6.2.1. KRAS Genindeki Ekzon 2 Kodon 12 ve Kodon 13 Mutasyonlarının Tespiti

Set 1 (245 bp)

Kras1E2F: 5'-GTACTGGTGGAGTATTTGAT-3'

Kras1E2R: 5'-GTCCTGCACCAGTAATATGC-3',

Tablo 7. KRAS genine ait kodon 12 ve 13 mutasyonlarının tespiti için kullanılan primerler (91).

AATTTTGTAAGGTATTTTCAAATAATTTTTCATATAAAGGTGAGTTTGTATTAAA
AGAGTGTATTAACCTTATGTGTGACATGTTCTAATATAGTCACATTTTCATTATT
TTTATTATAAGGCCTGCTGAAAATGACTGAATATAAACTTGTGGTAGTTGGAGC
TGGTGGCGTAGGCAAGAGTGCCTTGACGATACAGCTAATTCAGAATCATTTTGT
GGACGAATATGATCCAACAATAGAGGTAAATCCTTGTTTAATATCATTCTTTGA
TACAGATAAAGGTTTCTCTGACCATTTTCATGAGTACTTATTACAAGA

2.6.2.2. KRAS Genindeki Ekzon 3 Kodon 61 Mutasyonlarının Tespiti

Ekzon 3 (197 bp)

KrasE3F: 5'-GGTGCACCTGTAATAATCCAGAC-3'

KrasE3R: 5'-TGATTTAGTATTATTTATGGC-3'

Tablo 8. KRAS genine ait kodon 61 mutasyonlarının tespiti için kullanılan primerler (92).

ATAACACCTTTTTTGAAGTAAAATGTGTTTCTCCCTTCTCAGGATTCCTACAGGA
AGCAAGTAGTAATTGATGGAGAAACCTGTCTCTTGGATATTCTCGACACAGCAG
GTCATGAGGAGTACAGTGCAATGAGGGACCAGTACATGAGGACTGGGGAGGGC
TTTCTTTGTGTATTTTTTGAAGATATTCACCATTA

Laboratuvarlarımızda DNA dizileme cihazı bulunmadığından örnekler Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez laboratuvarına gönderildi ve tüm DNA dizileme işlemleri bu birim tarafından gerçekleştirildi.

2.6.2.3. PZR Kurulması İşlemi

Polimeraz zincir reaksiyonu 0,5 ml'lik tüplerde toplam hacim 30µl olacak şekilde gerçekleştirildi. Her bir tüpe 6 µl hasta DNA'sı ve üzerine 3 µl MgCl₂, 3 µl 10X buffer, 3 µl dNTP (2.5mM), 1 µl primer 1 (30 pmol), 1 µl primer 2 (30 pmol), 0,1 U Taq DNA polimeraz ve 13 µl ddH₂O konuldu. Hazırlanan tüpler vortekslendi ve PZR cihazına önceden girilmiş olan programda PZR işlemi gerçekleşti. PZR sonrası ürünler agaroz jel elektroforezi ile analiz edildi.

2.6.2.4. PZR Koşulları

Değerlendirilen tüm mutasyonların tespiti için aynı PZR koşulları kullanıldı.

94 °C de 5 dakika	
55 °C de 1 dakika	1 döngü
72 °C de 1 dakika	
94 °C de 1 dakika (denatürasyon)	
60 °C de 1 dakika (eşleşme)	35 döngü
72 °C de 1 dakika (sentez)	
94 °C de 1 dakika	
55 °C de 1 dakika	1 döngü
72 °C de 7 dakika	

2.7. Agaroz Jel Elektroforezi

Yapılan bu çalışmada PZR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için agaroz jel elektroforezi uygulandı. Elde edilen ürünlerin büyüklüklerini tanımlayabilmek için % 4'lük jel kullanıldı. Kullanılan elektroforez düzeneğine uygun hacim, toz

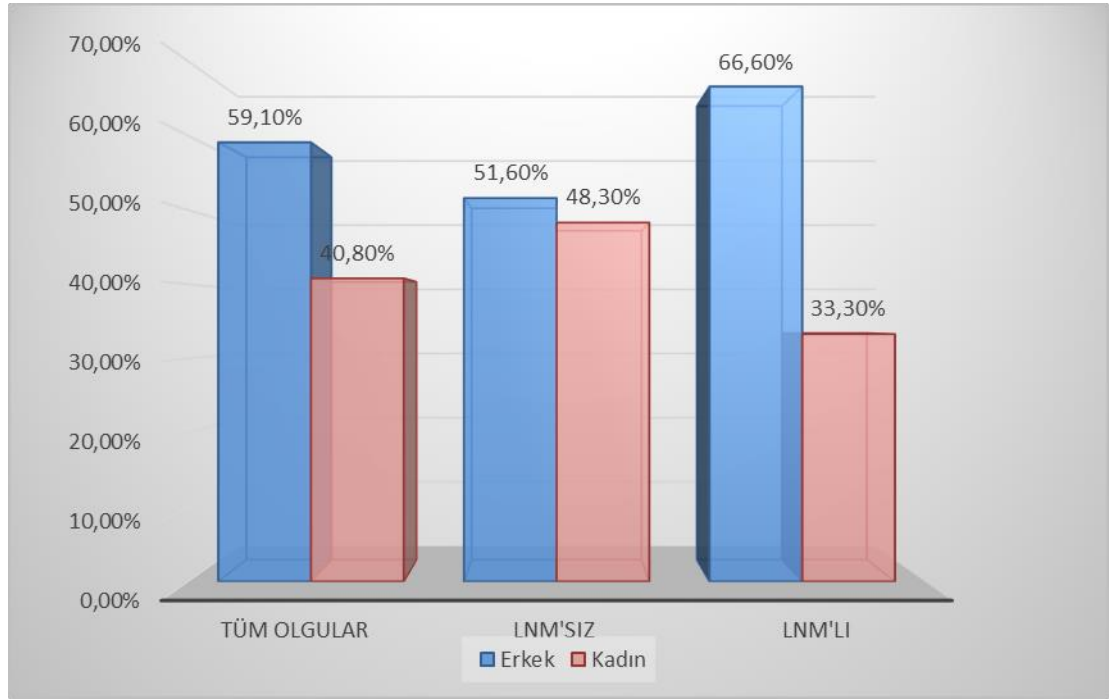
halindeki agarozun (0.5X) TBE tamponunda manyetik karıştırıcılı bir mikrodalga fırında kaynatılarak çözülmesi ile oluşturuldu. Ardından kaynamış çözelti 55–60°C'ye soğutularak 0,25 µg/ml EtBr ilave edildi. Kuyuları oluşturacak olan tarak, tabağına yerleştirildikten sonra hazırlanan jel, hava kabarcığı kalmayacak şekilde buraya döküldü. Jelin polimerizasyonu sonrası tarak dikkatlice çıkarılarak jel platformu (0.5X) TBE tamponu ile dolu olan elektroforez tankına yerleştirildi. Bu tampondan jelin üzerini 1–2 mm geçecek kadar eklendi. Örnekler ve belirteç DNA, 6X yükleme boyası ile 5:1 oranında karıştırılarak kuyulara 15'er µl yüklendi. Güç kaynağı açılarak 90 V'a ayarlandı. Yaklaşık yarım saat sonra güç kaynağı kapatıldı. Jel görüntüleme sisteminde UV ışını altında incelendi. Bant yoğunlukları iyi olan örnekler dizileme için ayrıldı. Agaroz jel bantları zayıf olan örnekler için tekrar PZR yapıldı. Bant yoğunlukları iyi olan örneklerin tamamı DNA dizileme için hizmet alımı kapsamında Refgen (Ankara) firmasına gönderildi.

2.8. İstatistik Analizler

İstatistiklerin hazırlanmasında ve parametreler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde Pearson korelasyon analizi kullanıldı. Hasta ve kontroller genotip ve allel sıklıklarının dağılımı Ki-kare analizi ile yapıldı. Gruplar arası farkların değerlendirilmesinde non-parametrik bir test olan Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Değerlendirmelerde $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmaya alınan toplam 120 olgunun 71'i erkek (%59.1), 49'u (%40.8) kadındı. Lenf nodu metastazı olmayan (LNM'sız) 60 olgunun 31'i erkek (%51.6), 29'u (%48.3) kadın; lenf nodu metastazlı (LNM'lı) 60 olgunun 40'ı (%66.6) erkek, 20'si (%33.3) kadındı. Gruplar arasında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$) (Şekil 4, Tablo 9).



Şekil 4. Olguların Cinsiyet Dağılımı ($p=0,068$)

Çalışmaya alınan tüm olguların en küçüğünün yaşı 30, en büyüğünün yaşı 89 olup yaş ortalaması 61.76 ± 12.67 olarak belirlendi. LNM'sız olgularda yaş ortalaması 63.35 ± 13.07 , LNM'lı olgularda ise yaş ortalaması 60.18 ± 12.17 olarak tespit edildi. Yaş ortalaması bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 9).

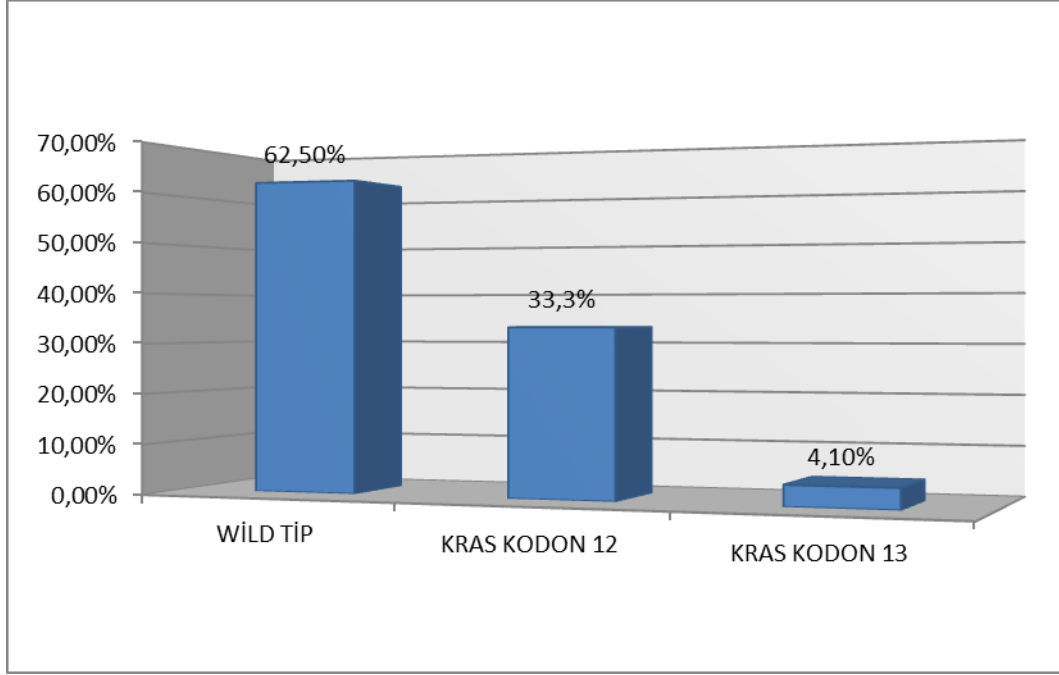
Çalışmaya alınan tüm olguların en küçük tümör (tm) çapı 1,5 cm, en büyük tm çapı 13 cm olup tm çapı ortalaması 5.37 ± 2.31 olarak belirlendi. LNM'sız olgularda ortalama tm çapı $5,38\pm 2.27$, LNM'lı olgularda ortalama tm çapı $5,37\pm 2.37$ olarak tespit edildi. Ortalama tm çapı bakımından gruplar arasında farklılık izlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 9).

Çalışmaya alınan toplam 120 olgunun 11'i (%9) çekumda, 33'ü (%27.5) sağ kolonda, 6'sı (%5) transvers kolonda, 29'u (%24.1) sol kolonda ve 41'i (%34.1) sigmoid kolonda lokalizeydi. Tümör lokalizasyonu bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi ($p<0,05$). LNM'sız olguların 9'u (%15) çekumda lokalize iken LNM'lı olguların sadece 2'si (%3.3) çekumda lokalizeydi. LNM'sız olguların sadece 1'i (%1.6) transvers kolonda ve 10'u (%16.6) sol kolonda, LNM'lı olguların 5'i (%3.3) transvers kolonda, 19'u (%31.6) sol kolonda görüldü. Çalışmamızda transvers kolon ve sol kolonda yerleşim gösteren tümörlerin daha yüksek oranda lenf nodu metastazı yaptığı dikkati çekti (Tablo 9).

Tablo 9. Olguların klinikopatolojik özelliklerinin dağılımı

Klinikopatolojik değişkenler	Tüm olgular n=120 (%)	LNM'sız n=60 (%)	LNM'lı n=60 (%)	p değeri
Cinsiyet				
Erkek	71 (%59.1)	31 (%51.6)	40 (%66.6)	p=0,068
Kadın	49 (%40.8)	29 (%48.3)	20 (%33.3)	
Ortalama Yaş	61.76±12.67	63.35±13.07	60.18±12.17	p=0,236
Ortalama Tm çapı	5.37± 2.31	5.38±2.27	5.37±2.37	p=0,870
Lokalizasyon				
Çekum	11 (%9)	9 (%15)	2 (%3.3)	p=0,034
Sağ Kolon	33 (%27.5)	18 (%30)	15 (%25)	
Transvers Kolon	6 (%5)	1 (%1.6)	5 (%3.3)	
Sol Kolon	29 (%24.1)	10 (%16.6)	19 (%31.6)	
Sigmoid Kolon	41 (%34.1)	22 (%36.6)	19 (%31.6)	

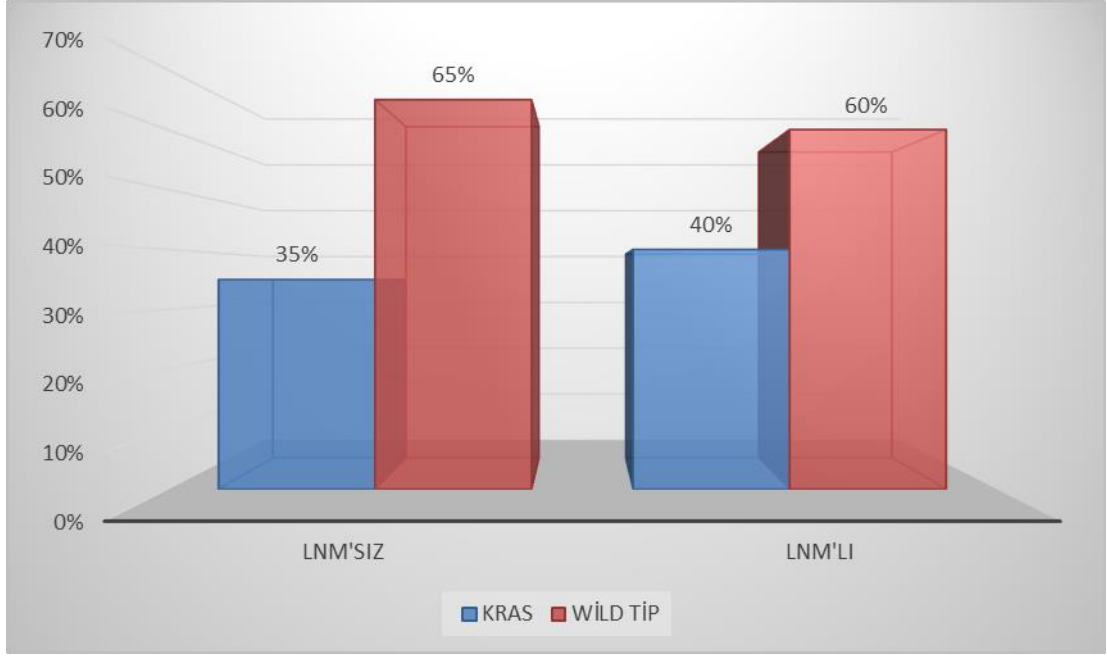
Çalışmaya alınan toplam 120 olgunun 45'inde (%37.5) KRAS mutasyonu izlenirken 75'inde (%62.5) KRAS mutasyonu izlenmedi (Wild tip). KRAS mutasyonu mevcut toplam 45 olgunun 40'ında (%33.3) kodon 12'de, 5'inde (%4.1) kodon 13'de mutasyon görüldü. KRAS kodon 61'de ise mutasyona rastlanılmadı (Şekil 5).



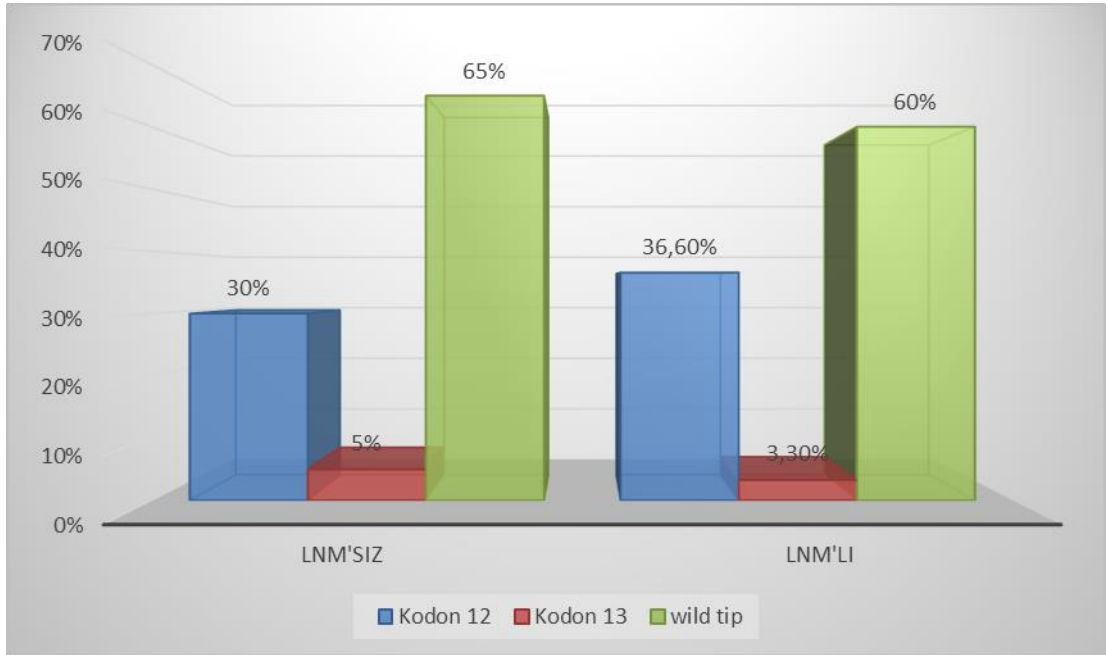
Şekil 5. Tüm olguların KRAS mutasyon durumu

Çalışmamızda KRAS mutasyon durumu bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). LNM'sız olguların 21'inde (%35) KRAS mutasyonu izlenmiş olup 39'unda (%65) KRAS mutasyonu izlenmedi (Wild tip). LNM'lı olguların 24'ünde (%40) KRAS mutasyonu izlenmiş olup 36'sında (%60) KRAS mutasyonu izlenmedi (Wild tip) (Şekil 6).

Çalışmaya alınan LNM'sız olgularda 18'inde (%30) kodon 12'de, 3'ünde (%5) kodon 13'de olmak üzere 21'inde (%35) KRAS mutasyonu bulundu. LNM'lı olgularda 22'sinde (%36.6) kodon 12'de, 2'sinde (%3.3) kodon 13'de olmak üzere 24'ünde (%40) KRAS mutasyonu bulundu (Şekil 7).



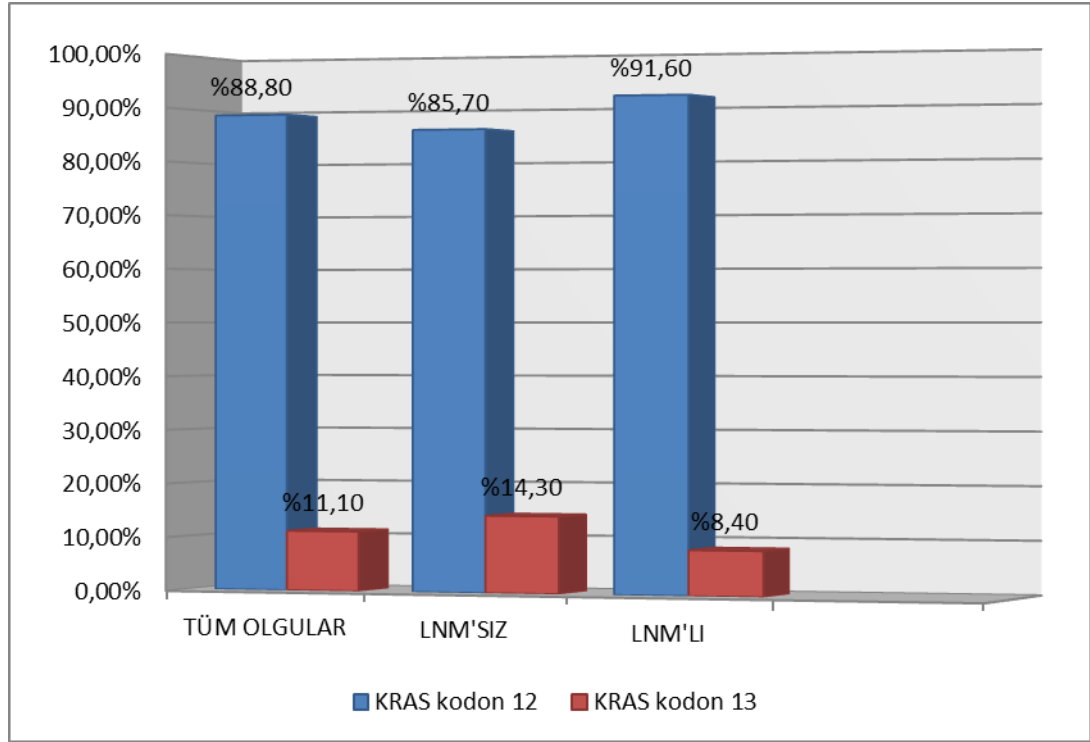
Şekil 6. Gruplar arasında KRAS mutasyon durumu (p=0,706)



Şekil 7. Gruplar arasında KRAS mutasyon dağılımı

Gruplar arasında KRAS kodon 12 ve kodon 13 mutasyon dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Mutasyon izlenen toplam 45 olgunun 40'ının (%88.8) kodon 12'de, 5'inin (%11.1) kodon 13'de olduğu görüldü. Mutasyon izlenen LNM'sız 21 olgunun 18'i (%85.7) kodon

12'de, 3'ü (%14.3) kodon 13'de, mutasyon izlenen LNM'lı 24 olgunun 22'si (%91.6) kodon 12'de, 2'si (%8.4) kodon 13'de izlendi (Şekil 8).



Şekil 8. KRAS kodon 12 ve kodon 13 mutasyonu dağılımı (kodon 12 p=0,562 kodon 13 p=1,00)

Çalışmamızda KRAS mutasyonu izlenen ve mutasyon izlenmeyen (Wild tip) tüm olgularda cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). KRAS mutasyonu izlenen toplam 45 olgunun 27'si (%60) erkek, 18'i (%40) kadındı. Mutasyon izlenmeyen 75 olgunun 44'ü (%58.6) erkek, 31'i (%41.3) ise kadındı (Tablo 10).

Çalışmaya alınan KRAS mutasyonu izlenen ve mutasyon izlenmeyen (Wild tip) tüm olgularda yaş ortalaması bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Mutasyon izlenen olgularda yaş ortalaması 59.95 ± 11.2 , mutasyon izlenmeyen olgularda ise yaş ortalaması 62.85 ± 13.4 olarak belirlendi (Tablo 10).

Çalışmaya alınan KRAS mutasyonu izlenen ve mutasyon izlenmeyen (Wild tip) tüm olgularda ortalama tm çapı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Mutasyon izlenen tüm olgularda tm çapı ortalaması 5.70 ± 2.46 ,

mutasyon izlenmeyen tüm olgularda ise tm çapı ortalaması 5.18 ± 2.21 olarak belirlendi (Tablo 10).

Tablo 10. Tüm olgularda klinikopatolojik değişkenler ile KRAS mutasyon ilişkisi

Klinikopatolojik değişkenler	KRAS n (%)	WILD n (%)	p değeri
Cinsiyet			
Erkek	27 (%60)	44 (%58.6)	0,520
Kadın	18 (%40)	31 (%41.3)	
Ortalama Yaş	59.95±11.2	62.85±13.4	0,178
Ortalama Tm çapı	5.70±2.46	5.18±2.21	0,185

KRAS mutasyonu izlenen ve mutasyon izlenmeyen (Wild tip) tüm olgularda tümör lokalizasyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Mutasyon izlenen toplam 45 olgunun 6'sı çekumda, 13'ü sağ kolonda, 2'si transvers kolonda, 10'u sol kolonda ve 14'ü sigmoid kolonda yerleşmişti. Mutasyon izlenmeyen toplam 75 olgunun 5'i çekumda, 20'si sağ kolonda, 4'ü transvers kolonda, 19'u sol kolonda ve 27'si sigmoid kolonda görüldü (Tablo 11).

Tablo 11. Tüm olgularda tümör lokalizasyonu ile KRAS mutasyonu ilişkisi

	KRAS n=45	WILD n=75	
Lokalizasyon			
Çekum	6	5	p=0,787
Sağ Kolon	13	20	
Transvers Kolon	2	4	
Sol Kolon	10	19	
Sigmoid Kolon	14	27	

Çalışmamızda KRAS mutasyonu izlenen ve mutasyon izlenmeyen (Wild tip) LNM'sız ve LNM'lı olgularda cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). KRAS mutasyonu izlenen 21 LNM'sız olgunun 12'si (%57.1) erkek, 9'u (%42.8) kadındı. Mutasyon izlenmeyen 39 LNM'sız olgunun 19'u (%48.7) erkek, 20'si (%51.8) kadındı. KRAS mutasyonu izlenen 24 LNM'lı olgunun 15'i (%67.5) erkek, 9'u (%37.5) kadındı. Mutasyon izlenmeyen 36 LNM'lı olgunun 25'i (%69.4) erkek, 11'i (%30.5) kadındı (Tablo 12).

Çalışmamızda KRAS mutasyonu izlenen ve mutasyon izlenmeyen (Wild tip) LNM'sız ve LNM'lı olgularda yaş ortalaması bakımından istatistiksel olarak anlamlı

farklılık izlenmedi ($p>0,05$). KRAS mutasyonu izlenen 21 LNM'sız olgunun yaş ortalaması 59.61 ± 13.7 , mutasyon izlenmeyen 39 LNM'sız olgunun yaş ortalaması 65.35 ± 12.4 olarak belirlendi KRAS mutasyonu izlenen 24 LNM'lı olgunun yaş ortalaması 60.25 ± 8.77 , mutasyon izlenmeyen 36 LNM'lı olgunun ise yaş ortalaması 60.13 ± 14.1 olarak tespit edildi (Tablo 12).

Çalışmamızda KRAS mutasyonu izlenen ve mutasyon izlenmeyen (Wild tip) LNM'sız ve LNM'lı olgularda ortalama tm çapı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). KRAS mutasyonu izlenen 21 LNM'sız olgunun tm çapı ortalaması 5.65 ± 1.93 , mutasyon izlenmeyen 39 LNM'sız olgunun ise tm çapı ortalaması 5.23 ± 2.44 olarak tespit edildi. KRAS mutasyonu izlenen 24 LNM'lı olgunun tm çapı ortalaması 5.74 ± 2.89 , mutasyon izlenmeyen 36 LNM'lı olgunun ise tm çapı ortalaması 5.12 ± 1.96 olarak bulundu (Tablo 12).

Çalışmamızda KRAS mutasyonu izlenen ve mutasyon izlenmeyen (Wild tip) LNM'sız ve LNM'lı olgularda tümör lokalizasyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). Mutasyon izlenen 21 LNM'sız olgunun 4'ü çekumda, 5'i sağ kolonda, 2'si sol kolonda ve 10'u sigmoid kolonda yerleşmişti. Mutasyon izlenmeyen 39 LNM'sız olgunun 5'i çekumda, 13'ü sağ kolonda, 1'i transvers kolonda, 8'i sol kolonda ve 12'si sigmoid kolonda görüldü. Mutasyon izlenen 24 LNM'lı olgunun 2'si çekumda, 8'i sağ kolonda, 2'si transvers kolonda, 8'i sol kolonda ve 4'ü sigmoid kolonda yerleşmişti. Mutasyon izlenmeyen 36 LNM'lı olgunun 7'si sağ kolonda, 3'ü transvers kolonda, 11'i sol kolonda ve 15'i sigmoid kolonda görüldü (Tablo 13).

Tablo 12. Gruplar arasında klinikopatolojik değişkenler ile KRAS mutasyon ilişkisi

Klinikopatolojik Değişkenler	LNM'sız		p değeri	LNM'lı		p değeri
	KRAS n=21	WİLD n=39		KRAS n=24	WİLD n=36	
Cinsiyet						
Erkek	12	19	p=0,595	15	25	p=0,590
Kadın	9	20		9	11	
Ortalama Yaş	59.61	65.35	p=0,139	60.25	60.13	p=0,833
Ortalama Tm Çapı	5.65	5.23	p=0,166	5.74	5.12	p=0,623

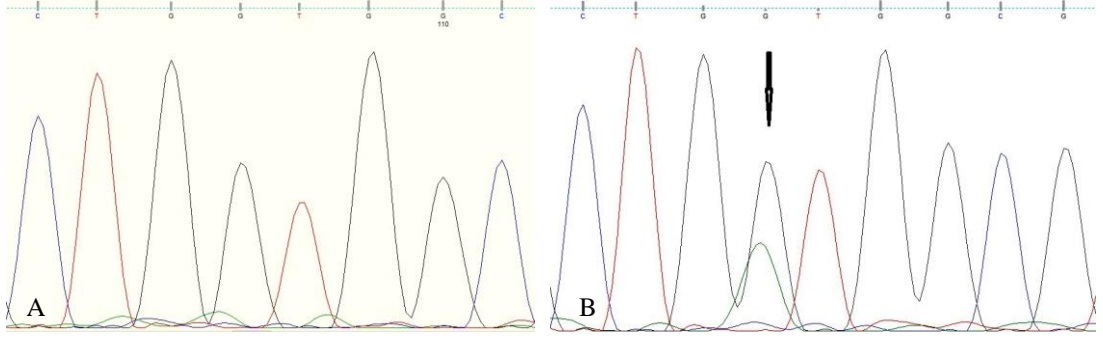
Tablo 13. Gruplar arasında tümör lokalizasyonu ile KRAS mutasyonu ilişkisi

Lokalizasyon	LNM'sız		p değeri	LNM'lı		p değeri
	KRAS n=21	WILD n=39		KRAS n=24	WILD n=36	
Çekum	4	5		2	0	
Sağ Kolon	5	13		8	7	
Transvers Kolon	0	1	p=0,501	2	3	p=0,137
Sol Kolon	2	8		8	11	
Sigmoid Kolon	10	12		4	15	

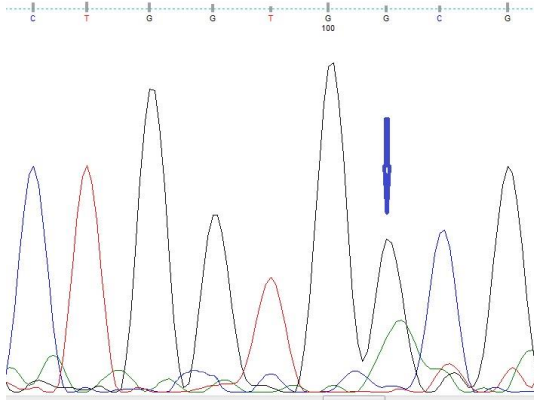
Çalışmamızda KRAS nokta mutasyon dağılımı incelendiğinde ise tüm olgularda mutasyon görülen 45 olgunun kodon 12 üzerindeki nokta mutasyonlarının 16'sı (%35.5) Gly12Asp (Glisin-Aspartat), 11'i (%24.4) Gly12Val (Glisin-Valin), 5'i (%11.1) Gly12Cys (Glisin-Sistein), 5'i (%11.1) Gly12Ala (Glisin- Alanin), 3'ü (%6.6) Gly13Ser (Glisin-Serin) şeklinde iken, 45 olgunun kodon 13 üzerindeki nokta mutasyonunun 5'ide (%11.1) Gly13Asp şeklinde olduğu izlendi. 21 LNM'sız olgunun kodon 12 üzerindeki nokta mutasyonlarının 7'si (%33.3) Gly12Asp, 5'i (%23.8) Gly12Val, 3'ü (%14.3) Gly12Cys, 2'si (%9.5) Gly12Ala, 1'i (%4.7) Gly13Ser şeklinde iken, 21 olgunun kodon 13 üzerindeki nokta mutasyonunun 3'üde (%14.3) Gly13Asp şeklinde izlendi. 24 LNM'lı olgunun kodon 12 üzerindeki nokta mutasyonlarının 9'u (%37.5) Gly12Asp, 6'sı (%25) Gly12Val, 2'si (%8.3) Gly12Cys, 3'ü (%12.5) Gly12Ala, 2'si (%8.3) Gly13Ser olup, 24 olgunun kodon 13 üzerindeki nokta mutasyonunun 2'side (%8.3) Gly13Asp şeklinde izlendi (Tablo 14, Şekil 9, Şekil 10).

Tablo 14. KRAS nokta mutasyonlarının gruplara göre dağılımı

Gruplar	Kodon 12				Kodon 13	
	Gly12Asp n=16 (%35.5)	Gly12Val n=11 (%24.4)	Gly12Cys n=5 (%11.1)	Gly12Ala n=5 (%11.1)	Gly13Ser n=3 (%6.6)	Gly13Asp n=5 (%11.1)
LNM'sız n=21	7 (%33.3)	5 (%23.8)	3 (%14.3)	2 (%14.3)	1 (%9.5)	3 (%14.3)
LNM'lı n=24	9 (%37.5)	6 (%25)	2 (%8.3)	3 (%12.5)	2 (%8.3)	2 (%8.3)



Şekil 9. A, Normal KRAS kodon 12. B, KRAS kodon 12 Gly12Asp mutasyonu



Şekil 10. KRAS kodon 13 Gly13Asp mutasyonu

4. TARTIŞMA

Gastrointestinal sistemin en yaygın malignitesi olan kolon kanserleri mortalite ve morbiditenin ana nedenlerinden biridir (1). Sağlık Bakanlığının verilerine göre ülkemizde kolorektal kanser görülme sıklığı %6.2'dir. Ülkemizde en sık görülen dördüncü kanser türüdür. Hastaların %59'u erkek, %41'i kadındır. Erkek/Kadın oranı 1,44'dür (6). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde hastaların %59.1'i erkek, %40.8'i kadındı. Erkek/Kadın oranı 1,44'dür.

Kolorektal karsinomlar en sık olarak 60 ile 79 yaşları arasında görülür. İnsidans yaşla birlikte artar. Ancak 40 yaş öncesi görülmesi nadirdir. Genç kolorektal karsinomlu hasta tanımlanmasında baz alınacak yaş halen tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda bu sınır Amsterdam Kriterlerine göre 50 yaş ve altı iken bazı çalışmalarda 30 yaş ve altıdır (93). Yaş sınırı henüz standart olmadığından farklı çalışmalar arasında anlamlı kıyaslama yapmak zorlaşmıştır. Singapurda yapılan bir çalışmada 2426 kolorektal karsinomlu olgunun %86.4'ü 50 yaş ve üzerinde iken ülkemizde yapılan bir çalışmada ise bu oran %74.5 olarak bulunmuştur (88, 94). Bizim çalışmamızda 50 yaş ve üzerinde tanı alan hastalar olguların %81.6'sını oluşturmaktadır.

Kolorektal kanser gelişimi hem genetik hem de çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörler önem sırası ile aile hikâyesi, fiziksel aktivite, inflamatuvar bağırsak hastalığı, obezite, kırmızı et, sigara ve alkoldür (9). Kolorektal karsinomların %98'ini adenokarsinomlar oluşturmaktadır. Büyük çoğunluğu adenomatöz poliplerden gelişmekte olup erken tanı ile tedavide başarılı sonuçlar elde edilebildiğinden önem taşımaktadırlar (11).

Kolorektal kanser hastaları için tedaviye ilişkin kararlarda RAS mutasyon durumu dikkate değer bir role sahiptir. Mutant RAS varlığı hastaların kemoterapiye dirençli olabileceğini gösterir. Kanserlerdeki RAS mutasyonlarının %90'ı KRAS geninde ortaya çıkar. KRAS 12. kromozomun kısa kolu üzerinde hücre membranı ve sitoplazma yerleşimli olan ve intrasellüler sinyal üretiminde yer alan G proteini ile ilişkili bir gendir (66). KRAS mutasyonlarının çoğu kodon 12, 13, 59 ve 61'de tanımlanmıştır (67).

Kolorektal kanser tedavisinde en son varılan nokta moleküler olarak hedeflendirilmiş tedavidir. Bir tirozin kinaz reseptörü olan EGFR, kolorektal kanser

hücrelerinin büyüme ve sağkalımları ile ilişkili yolların önemli bir düzenleyicisidir. EGFR hedefli ajanların moleküler temeli dikkate alındığında, KRAS mutasyonlu tümörlerde, reseptör seviyesinde EGFR blokajı, sinyal aktivasyonunu durduramaz. Çünkü aktif RAS proteini EGFR'den bağımsız olarak sinyal aktivasyonunu sağlar (82). KRAS geninin 12. ve 13. Kodonda mutasyon olması durumunda EGFR'yi hedefleyen ajanların tedavisine yanıt vermedikleri, KRAS geni wild tip (mutasyon taşımayan) olanların ise tedaviye uygun adaylar olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (15).

Günümüzde insanlarda görülen tüm tümörlerin %17-25'inde kolorektal kanserlerin ise %30-40'ında KRAS gen mutasyonu izlendiğinden tedaviye başlamadan önce mutasyon taraması önemlidir (15, 16).

Kolorektal karsinomlu olgularda KRAS mutasyon görülme oranları farklı etnik gruplar üzerinde yapılan analizlerde; İtalya, İsveç, Çin, Irak gibi ülkelerde %20-50 oranında değişmektedir (95-98).

Vaughn ve ark. (99) olguların %42'sinde KRAS mutasyonu bulmuş, wild tip olanların %27.3'ünde diğer bir KRAS kodonunda (kodon 61 ya da 146) ya da NRAS'ta mutasyon olduğunu göstermiştir.

Miyaki ve ark. (100) sporadik kolorektal karsinom olgularının %4'ünde BRAF, %34'ünde KRAS mutasyonu bulmuştur. Grimminger ve ark. (101) kolorektal kanserlerde %47 oranında KRAS mutasyonu bulmuş ancak hiçbirinde BRAF mutasyonuna rastlamamıştır. Imamura ve ark. (102) 1261 adet kolorektal hastasında %35.8 oranında KRAS mutasyonu izlemiştir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise kolorektal karsinomda KRAS mutasyonu sırasıyla %30 (103), %52.3 (88), %67.5 (104) oranında bulunmuştur. Bizim çalışmamızda 120 olguda KRAS mutasyon görülme sıklığını %37.5 (45/120) oranında buldu. Bu geniş dağılım yüzdeleri mutasyon analizinin yapıldığı metodların özgüllüğü ve duyarlılığının yanı sıra seçilen hasta serilerinin azlığı ve çevresel faktörlere bağlı olabilir.

Li ve ark. (105) %26'sı kodon 12'de, %5'i kodon 13'te olmak üzere %31.5 oranında KRAS, %7 oranında BRAF mutasyonu, bir olguda da kodon 12 ve 13 mutasyonlarını birlikte izlemiştir. Imamura ve ark. (102) 1261 olgunun %26.6'sı

kodon 12'de, %9.2'si kodon 13'de olmak üzere toplam 451'inde (%35.8) KRAS mutasyonu izlemiştir.

Esteller ve ark. (107) 737 kolorektal kanser olgusunda %37 (271/737) oranında KRAS mutasyonu bulmuş, 271 mutasyonun 195'ini (%71.9) kodon 12'de, 62'sini (%22.8) kodon 13'de olduğunu göstermiştir. Olguların 10'unda ise kodon 12 ve kodon 13 mutasyonlarını birlikte gözlemiştir. Martinetti ve ark. (108) 159 kolorektal kanser olgusunun 25'inde kodon 12'de, 2'sinde kodon 13'de ve 1'inde kodon 146'da KRAS mutasyonu izlemiştir.

Paliogiannis ve ark. (109) 729 kolorektal kanser olgusunun 219'unda (%30) KRAS mutasyonu bulmuş, 219 mutasyonun 158'ini (%72.1) kodon 12'de, 44'ünü (%20.1) kodon 13'de, 15'ini (%6.9) kodon 61'de ve 2'sini (%0.9) diğer kodonlarda olduğunu göstermiştir. De Roock ve ark. (110) 747 kolorektal kanser olgusunda %25.1'i kodon 12'de, %7.2'si kodon 13'de, %1.98'i kodon 61'de, %1.86'sı kodon 146'da olmak üzere %36.3 oranında KRAS mutasyonu izlemiştir.

Ülkemizde yapılan çalışmada 65 kolorektal kanser olgusunda %38,4'ü kodon 12'de, %13.8'i kodon 13'de olmak üzere toplam %52.3 (34/65) oranında KRAS mutasyonu izlenmiş, kodon 61'de ise mutasyon saptanmamıştır (88). Yine ülkemizde Kodaz ve ark. (111) 189 kolorektal kanser olgusunda 66'sını (%73.3) kodon 12'de, 18'ini (%20) kodon 13'de, 5'ini (%5) kodon 61'de ve 1'inde multiple olmak üzere %47.6 (90/189) oranında KRAS mutasyonu izlemiştir. Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada 40 kolorektal kanser olgusunda 25'i (%92) kodon 12'de, 1'i (%4) kodon 13'de, 1'i (%4) kodon 61'de olmak üzere 27 olguda KRAS mutasyonu izlenmiştir (104).

Bizim çalışmamızda literatürdeki çalışmalara benzer şekilde 45 KRAS mutasyonunun 40'ının (%88.8) kodon 12'de, 5'inin (%11.1) kodon 13'de olduğunu görüldü. Yine literatüre benzer şekilde bizim çalışmamızda tüm olgularda %33.3'ü kodon 12'de, %4.1'i kodon 13'de olmak üzere %37.5 oranında KRAS mutasyonu izlendi. KRAS kodon 61'de ise mutasyona rastlanmadı.

Bando ve ark. (112) 53 adet lenf nodu metastazlı, 56 adet primer toplam 109 kolorektal kanser olgusunda %30 (33/109) oranında KRAS mutasyonu bulmuş, lenf nodu metastazlı olgularda %26.4 (14/53), lenf nodu metastazlı olmayan olgularda %33.9 (19/56) oranında KRAS mutasyonu izlemiştir.

Miranda ve ark. (113) 101 primer kolorektal karsinom, 101 lenf nodu metastazlı ve 34 karaciğer metastazlı olgularında sırasıyla %31.6 (32/101), %18.8 (19/101), %38.2 (13/34) oranında KRAS mutasyonu bulmuştur. Baldus ve ark. (114) 100 primer kolorektal karsinom %41, 55 lenf nodu metastazlı kolorektal karsinom olgularında %56 oranında KRAS mutasyonu izlemiştir. Paliogiannis ve ark. (109) 690 primer kolorektal karsinom %30.1 (208/690) oranında, 39 metastatik vakada %28.2 (11/39) oranında KRAS mutasyonu olduğunu göstermiştir.

Kodaz ve ark. (111) ise metastatik olgularda %47, metastaz izlenmeyen olgularda %53 oranında KRAS mutasyonu izlemiştir. Ülkemizde yapılan çalışmada lenf nodu metastazlı olgularda %46 oranında, karaciğer metastazlı olgularda %35 oranında ve lenf nodu metastazı izlenmeyen olgularda %57 oranında KRAS mutasyonu izlenmiştir (88).

Bizim çalışmamızda lenf nodu metastazı olmayan olgularda %35 (21/60) oranında, lenf nodu metastazlı olgularda %40 (24/60) oranında KRAS mutasyonu olduğu görüldü. KRAS mutasyonu lenf nodu metastazlı olgularda lenf nodu metastazı olmayan olgulara göre daha yüksek görülmekle birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Bando ve ark. (112) 53 adet lenf nodu metastazlı kolorektal kanser olgusunda izlediği 14 adet KRAS mutasyonunun 12'sinin (%85.7) kodon 12'de, 2'sinin (%14.3) kodon 13'de, 56 adet primer kolorektal karsinom olgusunda izlediği 19 KRAS mutasyonunun 15'inin (%78.9) kodon 12'de, 4'ünün (%21.1) kodon 13'de olduğunu göstermiştir. Yine Bando ve ark. (112) 53 adet lenf nodu metastazlı kolorektal kanser olgusunda %22.6'sı kodon 12'de, %3.8'si kodon 13'de olmak üzere %26.4 oranında, 56 adet primer kolorektal kanser olgusunda ise %26.7'si kodon 12'de, %7.2'si kodon 13'de olmak üzere %33.9 oranında KRAS mutasyonu bulmuştur.

Ülkemizde yapılan çalışmada Kodaz ve ark. (111) lenf nodu tutulumlu kolorektal kanser olgularında izlenen KRAS mutasyonunun %76.5'ini kodon 12'de, %23.5'ini kodon 13'de, metastaz izlenmeyen olgularda izlenen KRAS mutasyonunun %65'ini kodon 12'de, %29'unu kodon 13'de olduğunu göstermiştir.

Bizim çalışmamızda LNM'sız olgularda %30'u kodon 12'de, %5'i kodon 13'de olmak üzere %35 oranında KRAS mutasyonu, LNM'lı olgularda ise %36.6'sı

kodon 12'de, %3.3'ü kodon 13'de olmak üzere %40 oranında KRAS mutasyonu izlendi. Mutasyon izlenen lenf nodu metastazı olmayan 21 olgunun 18'inin (%85.7) kodon 12'de, 3'ünün (%14.3) kodon 13'de, mutasyon izlenen lenf nodu metastazlı 24 olgunun 22'sinin (%91.6) kodon 12'de, 2'sinin (%8.4) kodon 13'de olduğu görüldü. Kodon 12 mutasyon oranı lenf nodu metastazlı olgularda lenf nodu metastazı olmayan olgulara göre daha yüksek, kodon 13 mutasyon oranı daha düşük izlenmekle birlikte aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Neumann ve ark. (16) primer tümör ve metastazları ayrı ayrı değerlendirdiğinde en sık görülen KRAS nokta mutasyonları, kodon 12'de Gly12Asp, Gly12Val ve kodon 13'te Gly13Asp olarak saptamıştır. Andreyev ve ark. (15) yaptığı çalışmada tüm olgularda en sık görülen KRAS nokta mutasyonları kodon 12 üzerinde Gly12Asp (%31.5), Gly12Val (%24.2) ve kodon 13 üzerinde ise Gly13Asp (%83.9) olarak izlenmiştir.

Ülkemizde yapılan çalışmada tüm mutasyonlar içerisinde en sık görülen KRAS nokta mutasyonları kodon 12'de Gly12Asp (%23.1), Gly12Val (%9.2) ve kodon 13'de Gly13Asp (%13.8) olarak izlenmiştir (88). Kodaz ve ark. (111) tüm mutasyonlar içerisinde en sık görülen KRAS nokta mutasyonları kodon 12 üzerinde Gly12Asp (%35.1), Gly12Val (%25.6) ve kodon 13 üzerinde Gly13Asp (%20) olarak tespit etmiştir. Bizim çalışmamızda literatüre benzer şekilde tüm mutasyonlar içerisinde en sık görülen KRAS nokta mutasyonları kodon 12'de Gly12Asp (%35.5), Gly12Val (%24.4) ve kodon 13'te ise Gly13Asp (%11.1) olarak izlendi.

Literatürdeki çalışmalarda LNM'sız ve LNM'lı olgular tümör lokalizasyonu bakımından karşılaştırıldığında anlamlı korelasyon saptanmamıştır (111, 115). Bizim çalışmamızda LNM'sız ve LNM'lı olgular tümör lokalizasyonu bakımından karşılaştırıldığında literatür bilgileri ile çelişmektedir. Gruplar arasında tümör lokalizasyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi ($p<0,05$). LNM'sız olguların 9'u (%15) çekumda lokalize iken LNM'lı olguların sadece 2'si (%3.3) çekumda lokalizeydi. LNM'sız olguların sadece 1'i (%1.6) transvers kolonda ve 10'u (%16.6) sol kolonda, LNM'lı olguların 5'i (%3.3) transvers kolonda, 19'u (%31.6) sol kolonda görüldü. Transvers kolon ve sol kolonda yerleşim gösteren tümörlerin daha yüksek oranda lenf nodu metastazı yaptığı dikkati çekti.

Literatürdeki çalışmalarda KRAS mutasyon durumu ile klinikopatolojik veriler arasında korelasyon saptanmamıştır (88, 107, 111, 115). Bizim çalışmamızda literatürdeki çalışmalara paralel olarak KRAS mutasyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, tümör lokalizasyonu arasında anlamlı korelasyon bulunmadı ($p>0,05$).

Çalışmamızdaki verilerin özetlenmesinde;

- Lenf nodu metastazı olmayan olgularda %35 (21/60), lenf nodu metastazlı olgularda %40 (24/60), tüm olgularda %37,5 (45/120) oranında KRAS mutasyonu izlendi. KRAS mutasyonu lenf nodu metastazlı olgularda lenf nodu metastazı olmayan olgulara göre daha yüksek görülmekle birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).
- Tüm olgularda %33.3'ünde kodon 12'de, %4.1'inde kodon 13'de, LNM'sız olgularda %30'unda kodon 12'de, %5'inde kodon 13'de, LNM'lı olgularda %36.6'sında kodon 12'de, %3.3'ünde kodon 13'de KRAS mutasyonu izlendi. KRAS kodon 12 ve kodon 13 mutasyon dağılımı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0,05$). KRAS kodon 61'de ise mutasyona rastlanmadı.
- Tüm olguların KRAS nokta mutasyonların dağılımı; %35.5'i Gly12Asp, %24.4'ü Gly12Val, %11.1'i Gly12Cys, %11.1'i Gly12Ala, %6.6'sı Gly13Ser şeklinde kodon 12 üzerinde, %11.1'i Gly13Asp şeklinde kodon 13 üzerinde izlendi.
- Tümör lokalizasyonu bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p<0,05$). Transvers kolon ve sol kolonda yerleşim gösteren tümörlerin daha yüksek oranda lenf nodu metastazı yaptığı dikkati çekti.
- KRAS mutasyonu ile yaş, cinsiyet, tümör çapı ve tümör lokalizasyonu arasında anlamlı korelasyon görülmedi ($p>0,05$).

Sonuç olarak; bu çalışma ile Elazığ ili ve çevresini yansıtan sınırlı sayıdaki orta derece diferansiye kolon adenokarsinomu tanılı olguların KRAS mutasyon analizi ve klinikopatolojik verileri incelendi. KRAS mutasyonu ile lenf nodu metastazı ve klinikopatolojik veriler arasında anlamlı korelasyon izlenmedi. Yapılan bu limitli çalışma ileride yapılacak çok merkezli ve daha fazla hasta sayısı içeren kanıt düzeyi yüksek çalışmalar için bir ön izlenim niteliği taşıma özelliğindedir.

5. KAYNAKLAR

1. Kumar R, Abbas A, DeLancey A, Malone E. Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: Saunders, 2010: 815-826.
2. Hagggar FA, Boushey RP. Colorectal Cancer Epidemiology Incidence, Mortality, Survival and Risk factors. Clin Colon Rectal Surg 2009: 191-197.
3. World Cancer Research Fundand American Institute for Cancer Research Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. Washington DC, American Institute for Cancer Research, 2007: 1-20.
4. Hamilton SR, Bosman FT, Boffetta P, Ilyas M, Morreau H, Nakamura SI, et al. Carcinoma of the Colon and Rectum. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (editors). Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System. Lyon: IARC Press, 2010: 132-181.
5. Jemal A, Siegel R, Ward E. Cancer Statics. Ca Cancer J.Clinic 2008: 58-71.
6. Nüfus tabanlı kanser kayıt merkezleri veri havuzu, sekiz il, 2004-2006 değerdendirilmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Daire Başkanlığı, 2006.
7. Parkin DM, Pisoni P, Ferlay J.Global Cancer Statistics. CA Cancer J.Clin 1999: 33-49.
8. Lepisto A, Kiviluoto T, Halttunen J, Jarvinen HJ. Surveillance and treatment of duodenal adenomatosis infamilial adenomatous polyposis. Endoscopy 2009: 41-504.
9. Odze R, Goldblum JR. Epithelial Neoplasms of Large İntestine. Redston M.(editor) Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas, Philadelphia; Saunders Elsevier, 2009; 2: 597-637.
10. Fausto, Mitchell, Kumar A. Robbins and Cotran Pathologic Basis Disease. 2010: 817-825.
11. Liu C, Crawford JM, Kumar V, Fausto N, Abbas A. Hastalığın Patolojik Temeli, Gastrointestinal Sistem. Göksel S, Sav A, Özdamar ŞO (Çeviren). 7. baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2009: 828-870.

12. Jesse D. Martinez, Kimberly E. Fultz, Natalia A, Ignantenko, Eugene W. Gerner. *Molecular Biology of Cancer*. 2003: 1-32.
13. Michor F, Y. Iwasa. Dynamics of colorectal cancer. *Semin Cancer Biol* 2005; 15: 484-493.
14. Jiang Y, Mackley H, Cheng H, Ajani JA. Use of K-ras as a predictive biomarker for selecting anti-EGF receptor pathway treatment. *Biomark Med* 2010; 4: 534-541.
15. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, Oates JR, Clarke PA. Kirsten Ras Mutations in Patients with Colorectal Cancer. The multicenter Rascal II Study. *Br J Cancer* 2001; 85(5): 692-696.
16. Neumann J, E. Zeindel-Eberhart. Frequency and Type of K-ras Mutations in Routine Diagnostic Analysis of Metastatic Colorectal Cancer. *Pathol Res Pract* 2009; 205: 858-862.
17. Mills SE. Dahl J, Greenson JK.(editors) *Histology for Pathologist*. Philadelphia, Lippincott Williams&Wilkins, 2007; 3: 627-643.
18. Sadler T.W. Langman's Medikal Embriyoloji. Başaklar A.C. (Çeviren) s.231-259. 7. baskı, Ankara, Palme kitabevi, 1996.
19. Petorak İ. Medikal Embriyoloji. 2.baskı, İstanbul: Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş, 1996: 1-196.
20. Gökmen FG. Sistemik Anatomi. Tekrar Basım, İzmir, 2008: 493-506.
21. Schwartz S, Shires GT, Spencer F. Colon, *Principles of surgery USA* 1994; 6: 1192-1278.
22. Romolo J. L. Embriology and Anatomy of the Colon. Schakelford's Surgery of the Alimentary Tract 1996; 4: 3-16.
23. İlgi S, Gökşen Y, Sayek İ. Gastrointestinal Sistem Anatomisi, Kolorektal Polipler ve Polipozis Sendromları, Kolorektal Karsinomlar Temel Cerrahi 2. baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 1999; 1: 555-567, 816-839.
24. Kuran O. Sistematik Anatomi. 3. baskı, İstanbul: Filiz Kitabevi, 1993: 403-416.

25. Junquiera LC, Carneiro J. Temel Histoloji Text&Atlas. Solakoğlu S, Aytekin Y (Çeviren) s.320-322. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2006.
26. Ovalle W.K, Nahiney P.C. Netter Temel Histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çeviren) s.304-306. Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2009.
27. Rosai J. Gastrointestinal Tract Large Bowel. Houston M. (editor) Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. China: Mosby Company, 2010: 729-799.
28. Mills S.E, Carter D, Oberman H.A, Reuter V, Stoler M. İntestinal Neoplasm. Cooper HS. (editor) Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2009: 1368-1431.
29. Kodner IJ, Fry RD, Fleshman JW, Birnbaum EH, Read TE. Cerrahinin İlkeleri. Gecim İ.E (Çeviren) s.1283-1394. 7. baskı, İstanbul, Güneş Tıp Kitabevleri, 2004.
30. Corman LM, Allison SI, Kuehne JP. Kolon ve Rektal Cerrahinin El Kitabı. Adana, Nobel Tıp Kitabevi. 2004: 1-20.
31. Guyton A.C, Hall J.E. (editors) Gastrointestinal Fizyoloji. Dikmenoğlu NH (Çeviren).Tıbbi Fizyoloji. Çavuşoğlu H (Çeviren) s.718-763. 10. baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2001.
32. Bozfakıoğlu Y, Müslümanoğlu M. Kolon Hastalıkları. Değerli Ü, Bozfakıoğlu Y (editors).Cerrahi Gastroenteroloji. 4. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 1997: 142-168.
33. Levin B, Lieberman DA, Mc Farland B. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, a joint guideline the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer and the American Colloge of Radiology. Gastroenterology 2008; 134: 1570-1595.
34. Garland C, RB Shekelle, E Barret-Connor E. Dietary Vitamin D and calcium and risk of colorectal cancer. The Lancet 1985; 325: 307-309.
35. Bingham SA, Day NE, Luben R. Dietary fibre in food and protection aganist colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition: an observation study. The Lancet 2003; 361: 1496-1501.

36. Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, Lantz PE, Isaacson PG. Epithelial Neoplasms of the Colon. *Gastrointestinal Pathology, An Atlas and Text*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2008; 3: 898-1034.
37. Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Andrews KS, Brooks D, Bond J, et al. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps. A joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology *Gastroenterology* 2008; 134: 1570-1595.
38. Lambert R, Kudo SE, Vieth M, Allen JI, Fujii H, Fujii T, et al. Pragmatic classification of superficial neoplastic colorectal lesions. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 1182-1199.
39. Roncucci L, M.Pedroni. Aberrant crypt foci in colorectal carcinogenesis. *Cell and crypt Dynamics. Cell prolif.* 2000; 33: 1-18.
40. Wang LC, Lee HC, Yeung CY, Chan WT, Jiang CB *Gastrointestinal polyps in children. Pediatr Neonatol* 2009; 50: 196-201.
41. Jansen M, de Len WW, Baas AF, Myoshi H, Mathus-Vliegen L, Taketo MM, et al. Mucosal prolapse in the pathogenesis of Peutz –Jeghers polyposis. *Gut* 2006: 1-55.
42. Brosens LA, Van Hattem A, Hyland LM, Iacobuzio-Donahue C, Romans KE, Axilbund J, et al. Risk of colorectal cancer in juvenil polyposis. *Gut* 2007; 56: 965-967.
43. Galiatsatos P, Foulkes Wd. Familial adenomatous polyposis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 385-398.
44. Bulow S. The risk of developing rectal cancer after colectomy and ileorectal anastomosis in Danish patients with polyposis coli. *Diseases of the Colon and Rectum.* 1984; 27: 726–729.
45. Lepisto A, Kiviluoto T, Halttunen J, Jarvinen HJ. Surveillance and treatment of duodenal adenomatosis in familial adenomatous polyposis. *Endoscopy* 2009; 41: 504-509.

46. Ligtenberg MJ, Kuiper RP, Chan TL, Goossens M, Hebeda KM, Voorendt M, et al. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of TACSTD1. *Nat Genet* 2009; 41: 112-117.
47. Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2003; 6: 919-932.
48. Rahner N, Steinke V. Hereditary cancer syndromes. *Dtsch Arztebl Int* 2008; 105: 706-714.
49. Lynch HT, Lynch JF. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer Lynch syndromes I and II a common genotype linked to oncogenes. *Med Hypotheses* 1985; 18: 19-28.
50. Van Hattem WA, Langeveld D, de Leng WW, Morsink FH, van Diest PJ, Iacobuzio-Donahue CA, et al. Histologic variations in juvenile polyp phenotype correlate with genetic defect underlying juvenile polyposis. *Am J Surg Path* 2011; 35: 530-536.
51. Schreiber IR, Baker M, Amos C, McGarrity TJ. The hamartomatous polyposis syndrome: clinical and molecular review. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 476-490.
52. Lynch J.P. and T.C. Hoops. The genetic pathogenesis of colorectal cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 2002; 4: 775-810.
53. Warthley D.L, V.L. Whiteall. Colorectal carcinogenesis road maps to cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 28: 3784-3791.
54. Snover D.C. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Path* 2011; 42: 1-10.
55. Fodde R. The APC gene in colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2002; 38: 867-871.
56. Takayama T, K. Miyonishi. Colorectal cancer; genetics of development and metastasis. *J Gastroenterol* 2006; 41: 185-192.
57. Hickman E.S, M.C. Moroni. The role p53 and pRB in apoptosis and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2002; 12: 60-61.
58. Castagnola P, And W. Giaretti. Mutant KRAS, chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer. *Biochimica et Biophysica Acta* 2005; 1756: 115-125.

59. Ümit Lüleyap. Moleküler Genetiğin Esasları. Adana: Nobel Kitabevi, 2008.
60. Cox AD, Der CJ. Farnesyltransferase inhibitors and cancer treatment. Targeting simply ras. *Biochimica et Biophysica Acta* 1997; 1333: 51-71.
61. Carether JM. The cellular and molecular pathogenesis of colorectal cancer. *Gastroenterology Clinic of North America* 1996; 25: 737-754.
62. William S. Klug, Michael R. Cummings. Genetik Kavramlar. Orhan Öner (Çeviri). Ankara, Palme Yayıncılık, 2003.
63. Lowry DR. Function and regulation of ras. *Annu Rev. Biochem* 1993; 62: 851-891.
64. Savaş İ. Onkogenler. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri*, 1995; 15: 374-377.
65. Demirelli F. Moleküler Genetik Temelleri. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Güncel Klinik Onkoloji Sempozyumu Dizisi, 2003; 37: 9-35.
66. Barbacid M. Ras genes. *Annu Rev. Biochem* 1987; 56: 779-827.
67. Oh JH, Ku JL, Yoon KA, Kwon HJ, Kim WH, Park HS, et al. Establishment and Characterization of 12 human colorectal carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 1999; 81: 902-910.
68. Feng LA. The many roads that lead to ras. *Science* 1993; 260: 767-768.
69. Lamlum H, Papadopoulou A, Ilyas M, Rowan A, Gillet C, Hanby A, et al. APC mutations are sufficient for the growth of early colorectal adenomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2225-2228.
70. Leslie A, Carey F.A. Partt NR, Steele. The colorectal adenoma-carcinoma sequence. *RJC Br J Surg* 2002; 89: 845-860.
71. Iacopetta B, F. Grieu. Microsatellite Instability of colorectal cancer. *Asia Pac Clin Oncol* 2010; 4: 260-269.
72. Chuang J.C. and P.A. Jones. Epigenetics and microRNAs. *Pediatr Res* 2007; 61: 24-29.

73. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical morphological molecular features. *Histopathology* 2007; 50: 113-130.
74. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Kawasaki T, Meyerhardt JA, Loda M, et al. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut* 2009; 58: 90-96.
75. Kopetz, Scoot. Adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. Areas of Confusion in Oncology. Clin report Oncology 2008: 1-260.
76. Jen J, Kim H, Piantadosi S, Liu ZF, Levitt RC, Sistonon P, et al. Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N Eng J Med* 1994; 331: 213-221.
77. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Tangen CM, et al. Intergroup study of fluorouracil plus levamisole as adjuvant therapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol* 1995; 13: 2936-2943.
78. Moertel CG. Chemotherapy of colorectal cancer. *N Eng J Med* 1994; 330: 1136-1143.
79. Twelves C, Wong A, Nowacki MP. Capecitabine as adjuvant treatment for stage III colon cancer. *N Eng J Med* 2005; 352: 2696-2704.
80. Van Krieken J. H, A. Jung. KRAS mutation testing for predicting response to anti-EGFR therapy for colorectal carcinoma: proposal for an European quality assurance program. *Virchows Arch* 2008; 453: 417-431.
81. Mitin N, K. L. Rossman. Signaling interplay in Ras superfamily function. *Curr Biol* 2015; 14: 563-574.
82. Vakiani E, D. B. Solit. KRAS and BRAF: drug targets and predictive biomarkers. *J Pathol* 2011; 223: 219-229.
83. Asghar U, E. Hawkes. Predictive and prognostic biomarkers for targeted therapy in metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2010; 9: 274-281.
84. Brian M, Wolpin Robert J. Reviews in Basic and Clinical Gastroenterology Systemic Treatment of Colorectal Cancer. Mayer 2008.

85. Lothe RA, Peltomaki P, Meling GI, Aaltonen LA, Nystrom Lahti M, Pylkkanen L, et al. Genomic instability in colorectal cancer: relationship to clinicopathological variables and family history. *Cancer Res* 1993; 53: 5849-5852.
86. Libutti SK, Saltz LB, Rustgi AK, Teper JE. Cancer of Colon. In Devita VT, Hellman S, Roseberg SA (eds). *Principles and Practice of Oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2005; 7: 1060-1109.
87. Devereux DF, Deckers PJ. Contributions of pathologic margins and Dukes stage to local recurrence in colorectal carcinoma. *Am J Surg* 1985; 149: 323-326.
88. Uçar A. 2001-2010 Yılları Arasında Kolorektal Kanseri Tanılı Olguların İncelenmesi ve KRAS Mutasyonunun Histopatolojik Parametrelerle İlişkisi. Uzmanlık Tezi, Antalya: Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Bölümü, 2013.
89. Nancy G. The RAS-MAPK Signal Transduction Pathway, 4-20; 2010. (<http://stke.sciencemag.org/content/3/119/tr1/F1>)
90. Nat Pernick, M.D. KRAS and Colorectal Cancer. 2012. (<http://pathologyoutlines.com/topic/stainkras.html>)
91. Solassol J, Ramos J, Crapez E, Saifi M, Mange A, Viones E, Lamy PJ, Costes U, Maudelonde T. KRAS mutation detection in paired frozen and Formalin-Fixed Parafin-Embedded (FFPE) colorectal cancer tissues. *Int J Mol Sci* 2011; 12: 3191-204.
92. Molinari F, Felicioni L, Buscarino M, De Dosso S, Buttitta F, Malatesta S, et al. Increased detection sensitivity for KRAS mutations enhances the prediction for anti-EGFR monoclonal antibody resistance in metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 14: 4901-4914.
93. Neufeld D, Shpitz B, Bugaev N. Young age onset of colorectal cancer in Israel. *Tech Coloproctol* 2009; 13: 201-204.
94. Yeo SA, Chew MH, Koh PK. Young colorectal carcinoma patients do not have a poorer prognosis: a comparative review of 2, 426 cases. *Tech Coloproctol* 2013.

95. Bazan V. Specific codon 13 K-ras mutations are predictive of clinical outcome in colorectal cancer patients, whereas codon 12 K-ras mutations are associated with musinocous histotype. *Annals of Oncology* 2013; 1438-1446.
96. Mannan A, Strömberg V. K-ras mutations are correlated to lymph node metastasis and tumor stage, but not to the growth pattern of colon carcinoma. *APMIS* 2011; 120: 459-468.
97. Z Li, Chen Y, Wang D. Detection of KRAS mutations and their associations with clinicopathological features and survival in chinese colorectal cancer patients. *The Journal of International Medical Research* 2012; 40: 1589-1598.
98. Al-Allawi NA, Ismaeel AT, Ahmed NY, Merza NS. The frequency and spectrum of K-ras mutations among Iraqi patients with sporadic colorectal carcinoma. *Indian J.cancer* 2012; 49: 1-10.
99. Vaughn C.P, S.D. Zobell. Frequency of KRAS, BRAF and NRAS mutations in colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50: 307-312.
100. Miyaki M, J.Iijima. Both BRAF and KRAS mutations are rare in colorectal carcinomas from patients with hereditary nonpolypoid colorectal cancer. *Cancer Lett* 2004; 211: 105-109.
101. Grimminger P, P.Danenberg. Biomarker for cetuximab-based neoadjuvant radiochemotherapy in locally advanced rectal cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3469-3477.
102. Imamura Y, Morikowa T, Liao X, Lochhead P, Kuchiba A, Yamauchi M, et al. Specific mutations in KRAS codon 12 and codon 13 and patients prognosis in 1075 BRAF wild type colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 4753-4763.
103. Görükmez O, Yakut T. Kolorektal Kanserli Hastalarda KRAS ve BRAF Gen Mutasyonlarının Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. *Uzmanlık Tezi, Bursa: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik A.D, 2012.*
104. Erdoğan Ö. Kolorektal Kanser ve Öncü Lezyonlarında KRAS ve BRAF Mutasyon Analizleri Yoluyla Tanısal Yaklaşım ve Hedefe Yönelik Tedavi Seçimi. *Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, 2011.*

105. Liou J. M, M. S. Wu. Mutations in BRAF correlate with poor survival of cancers in Chinese population. *Int J Colorectal Dis* 2011.
106. Zuo Yunxia, Cao Jun, Zhu Guashian. Mutations in epidermal growth factor receptor and KRAS in Chinese patients with colorectal cancer. *BMC Medical Genetics* 2010; 2350: 11-34.
107. Esteller M, Gonzalez S, Risques RA. KRAS and p16 aberrations cancer poor prognosis in human colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19: 299-304.
108. Daniela Martinetti, Rosario Costanzo, Shahin Kadare, Mehdiu Alimehmeti, Cristina Colarossi, Vincenzo Canzonieri et al. KRAS and BRAf mutational status in colon cancer from Albanian patients. *Diagnostic Pathology* 2014; 9: 1-187.
109. Panagiotis Paliogiannis, Antonio Cossu, Francesco Tanda, Giuseppe Palmieri and Grazia Palomba. KRAS mutational concordance between primary and metastatic colorectal adenocarcinoma. *Oncol Lett* 2014; 8: 1422-1426.
110. De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Founzilas G, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS and p13CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol* 2010; 11: 753-762.
111. Kodaz H, Hacibekiroğlu İ, Erdoğan B, Türkmen E, Tozkır H, Albayrak D, et al. Association between specific KRAS mutations and the clinicopathological characteristics of colorectal tumors. Departments of Medical Oncology, Medical Genetics and Medical Surgery, Faculty of Medicine, Trakya University, Edirne, 2014.
112. Hideaki Bando, Takayuki Yoshino, Satoshi Yuki, Eiji Shiozaki, Tomohiro Nishina, Shigenori Kadowaki, et al. Clinical outcome of Japanese metastatic colorectal cancer patients harboring the KRAS p.G13D mutation treated with cetuximab+irinotecan. *Jpn J Clin Oncol* 2012; 42: 1146-1151.
113. Elena Miranda, Paolo Bianchi, Annarita Destro, Emanuela Moreghi, Albert Malesci, Armando Santoro et al. Genetic and epigenetic alterations in primary colorectal cancers and related lymph node and liver metastases. *Cancer* 2013; 119: 266-276.

114. Stephan E. Baldus, Karl-L Schaefer, Rainer Engers. Prevalence and heterogeneity of KRAS, BRAF and PIK3A mutations in primary colorectal adenocarcinomas and their Corresponding Metastases. Clin Cancer Res 2010; 16: 790-796.
115. Krasimir Ivanov, Nikola Kolev, Anton Tonev. Intraoperative Sentinel Lymph Node Mapping in Patients with Colorectal Cancer. Rectal Cancer A Multidisciplinary Approach to Management. Medical University, Bulgaria, 2011: 160-181.

6. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Karaman'da doğdum. Karaman'da yaşadığım ilköğretim sonrası orta eğitimimi Karaman Anadolu Lisesi'nde ve lise eğitimimi Karaman Fen Lisesi'nde tamamlayıp 2004 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandım. 2010 yılında mezun olduktan sonra kısa bir süre pratisyen hekimlik ve Selçuk Üniversitesi Göğüs Cerrahisi bölümünde asistanlık deneyiminden sonra ayrıldım. 2011 yılında Fırat Üniversitesi Tıbbi Patoloji Bölümünü kazandım. 2013 yılında hayatımın en doğru kararı olarak eşim Suzan ile evlendim.