



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**2001-2010 YILLARI ARASINDA KOLOREKTAL
KARSİNOM TANILI OLGULARIN
RETROSPEKTİF İNCELENMESİ VE KRAS
MUTASYONUNUN HİSTOPATOLOJİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Aşlı UÇAR

Antalya, 2013



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**2001-2010 YILLARI ARASINDA KOLOREKTAL
KARSİNOM TANILI OLGULARIN
RETROSPEKTİF İNCELENMESİ VE KRAS
MUTASYONUNUN HİSTOPATOLOJİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Aslı UÇAR

Tez Danışmanı: Prof. Dr. M. Tekinalp GELEN

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2013

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalındaki asistanlık eğitimim süresince engin bilgi, görgü ve tecrübeleri ile bana önderlik ederek bilimsel ufkumu genişleten başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. F. Şeyda KARAVELİ ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. M. Tekinalp GELEN olmak üzere saygıdeğer hocalarıma minnet ve şükranlarımı arz ederim.

Çalışma enerjimi yüksek tutan asistan arkadaşlarıma, sevgi ve fedakarlıklarını esirgemeyen tüm dostlarıma, KRAS mutasyon analizlerini gerçekleştiren Uzm. Biyolog Mualla ÖZCAN'a, tezimin istatistik çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Deniz ÖZEL'e, laboratuvar çalışanları ve idari personele teşekkür ederim.

Hayatım boyunca sevgi ve emeklerini, maddi-manevi tüm desteklerini karşılıksız sunan aileme ve beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan ikizim Senem UÇAR'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar	v
Şekiller Dizini	vi
Çizelgeler Dizini	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Embriyoloji	3
2.2. Anatomi	3
2.3. Histoloji	6
2.4. Fizyoloji	8
2.5. Epidemiyoloji	8
2.6. Etiyoloji	9
2.7. Kolorektal Karsinomlar	12
2.7.1. Karsinogenez ve patoloji	12
2.7.2. Lokalizasyon	14
2.7.3. Tanı	15
2.7.4. Makroskopik özellikler	15
2.7.5. Mikroskopik özellikler	16
2.7.6. Evreleme	18
2.7.7. Tedavi	21
2.7.8. Prognoz	22
2.8. Kolorektal Karsinomların Moleküler Genetiği	22
2.9. KRAS Geni ve MAPK Yolağı	23
2.9.1. KRAS geni	23
2.9.2. MAPK yolağı	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Kolorektal Karsinom Tanılı Vakaların Seçimi	28
3.2. KRAS Mutasyon Analizi Yapılmış Olgular	28
4. BULGULAR	29
4.1. Hastaların Klinik Özellikleri	29
4.2. Histopatolojik Özellikler	30

4.3. KRAS Mutasyon Durumu İncelenen Hastaların Özellikleri	35
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇLAR	43
7. ÖZET	45
8. ABSTRACT	47
9. KAYNAKLAR	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AJCC	American Joint Committee on Cancer AJCC
APC	Adenomatous Polyposis Coli
ASCO	American Society of Clinical Oncology
CA 19-9	Karbohidrat Antijen 19-9
CAF	Carcinoma-Associated Fibroblast
CEA	Karsinoembriyonik Antijen
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
FAP	Familyal Adenomatöz Polipozis
FOLFIRI	5-FU, Leucovorin, Irinotecan
FOLFOX	5-FU, Leucovorin, Oxaliplatin
HNPCC	Hereditör Nonpolipoz Kolorektal Kanserler
HPCC	Hereditör Polipoz Kolorektal Kanserler
HRAS	Harvey-RAS
KRAS	Kirsten-RAS
MAPK	Mitojenle Aktive Protein Kinaz
MSİ	Mikrosatellit İnstabilitesi
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NOS	Not Otherwise Specified
PAS	Periodic Acid Schiff
PCR	Polymerase Chain Reaction
RASCAL	The Kirsten Ras in Colorectal Cancer Collaborative Group
TERT	Telomerik Revers Transkriptaz
TNM	Tümör, Lenf Nodu, Metastaz
UICC	Union for International Cancer Control
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WT	Wild Type

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Adenoma-karsinoma dizgesinde (sekasında) morfolojik ve moleküler değişikliklerin şeması	13
2.2. Kolorektal karsinom evrelerinin sembolik görünümü	20
2.3. KRAS geninin kromozomal lokalizasyonu	24
2.4. MAPK yolağı	25
4.1. Kolorektal karsinomlu olguların cinsiyet dağılımı	29
4.2. Kolorektal karsinomlu olguların 50 yaşa göre dağılımı	29
4.3. KRAS mutasyon analizi yapılan hastaların cinsiyet dağılımı	36
4.4. KRAS mutasyon analizi yapılan hastalın mutasyon dağılımı	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. KRAS mutasyonlarının sıklıkla izlendiği kodonlar ve varyantları	26
4.1. Olguların yaş ve cinsiyet dağılımları	30
4.2. Tümörlerin histopatolojik özelliklerinin dağılımı	31
4.3. Olguların TNM verilerinin dağılımı	33
4.4. Olguların radyolojik ve patolojik metastaz durumlarının dağılımı	34
4.5. Farklı klinikopatolojik parametrelerle KRAS gen mutasyonunun ilişkisi	37

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Deri kanserleri hariç tutulduğunda kolorektal kanserler, ABD’de kadın ve erkeklerde en sık görülen 3. kanser türüdür. 2013’te Amerikan Kanser Derneği’nin tahmin ettiği verilere göre her yıl kolon kanseri için 102,480 yeni vaka tespit edilirken, rektum kanseri için bu sayı 40,340 olarak tahmin edilmektedir (1). Dünya Sağlık Örgütü 2008 yılına ait verilerde dünya çapında her yıl 1,23 milyon yeni kolorektal kanser olgusu olduğunu bildirmektedir (2). Genel olarak yaşam boyu kolorektal kanser gelişme riski %5,1’dir. Bu risk kadınlarda erkeklerden daha düşüktür (1). Her iki cinsiyette ayrı ayrı olarak değerlendirildiğinde ABD’de kanserle ilişkili ölümlerin en sık üçüncü nedenidir. Her iki cinsiyet birlikte değerlendirildiğinde ise en sık ikinci nedendir. Kolorektal kanserlere bağlı ölüm hızı son 20 yıldır düşüş göstermektedir (1). Bunun olası nedenleri arasında çeşitli tarama yöntemleriyle saptanan poliplerin kansere dönüşmeden eksize edilmesinin yanı sıra tarama yöntemlerinin hastalığın erken döneminde tespitiyle kür şansını artırmasıdır. Ayrıca son birkaç yıl içinde kolorektal kanser tedavisindeki gelişmeler ve yenilikler sayesinde ABD’de 1 milyondan fazla hasta kanser sonrasında halen hayattadır (1).

Kolorektal karsinomların asıl tedavisi cerrahi olmakla birlikte, ileri evre kolorektal karsinomlu olguların tedavisinde tıbbi tedavi yöntemlerinde ilerlemeler kaydedilmiştir (1). Moleküler biyolojideki hızlı gelişmeler hastalıkların fizyopatolojilerinin daha ayrıntılı olarak ortaya konulmasını sağlamıştır. Birçok tümörde karsinogenetik etkisi olduğu kanıtlanmış olan, EGFR aktivasyonu ile başlayıp nükleusta proliferasyon ve benzeri stimulusların oluşmasını sağlayan ve kısaca MAPK yolağı adı verilen fizyolojik yolağın kolorektal adenokarsinomlarda karsinogenezinin temel faktörlerinden biri olduğu ortaya konmuştur (3). Genetik ve epigenetik olaylar ve bu mekanizmalarda rol alan moleküller ile gelişen kolorektal karsinomların bireysel tedavisi de bu moleküllerin kullanılması esasına dayanmaktadır. Bu moleküllerin klinik uygulamaya yansıyan en güzel örneği setuksimab ve panitumumab ile tedavi etkinliğini belirlemek için kullanılan KRAS’tır. Özellikle metastatik kolorektal karsinomlarda EGFR’yi hedefleyen tedavilere yanıtın % 15 ile sınırlı kalması KRAS, BRAF, PI3K ve PTEN gibi

umut vaat eden moleküllerin araştırılmasına yol açmıştır (4). KRAS 12. ve 13. Kodonda mutasyon olan metastatik kolorektal karsinomlu hastaların EGFR'yi hedefleyen setuksimab ve panitumumab tedavisine yanıt vermedikleri faz 3 çalışmalarda gösterilmiştir (5). Metastatik kolorektal kanserlerde KRAS'ın mutant olmaması, anti-EGFR tedavi endikasyonu olarak Avrupa Sağlık Otoritesi (European Health Authority) (6), Amerikan Klinik Onkoloji Birliği (7) (American Society of Clinical Oncology ASCO) ve Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (8) (National Comprehensive Cancer Network = NCCN) tarafından kabul edilmiştir. Bütün bunlara rağmen KRAS normal olan hastaların ancak % 30'u anti-EGFR antikoru ile tedaviye yanıt verebilmektedir (4).

Tüm kolorektal karsinomların % 40'ında KRAS geninde mutasyon izlendiğinden dolayı tedaviye başlamadan önce mutasyon taraması kuraldır.

Retrospektif  alışmamızda kolorektal karsinom tanısı alan hastaların demografik ve klinikopatolojik verileri değerlendirilip KRAS mutasyon analizi yapılmış olguların da yaş, cinsiyet, lokalizasyon, invazyon derinliği, lenf nodu metastazı, evre, perinöral invazyon ve karaciğer metastazı gibi prognostik faktörlerle ilişkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Embriyoloji

Kolon epitelyal, glandüler, nöral, vasküler, müsküler fibröz dokulardan oluşmaktadırdır. Endoderm, ektoderm ve spklanknik mezodermden köken alır. ekm, apendiks vermiformis, asendan kolon, transvers kolon proksimali midguttan, transvers kolon distali, desendan kolon, sigmoid kolon ve rektum hindgut kökenlidir.

2.2. Anatomi

Kolon ileoçekal valvden anüse kadar uzanır ve yaklaşık 1,5 m uzunluğundadır. Gastrointestinal sistemin yaklaşık 1/5'ini oluşturur. Anatomik olarak ekm, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşur.

A. ekm: Sağ fossa iliak'da yer alır. İnsanların yaklaşık % 95'inde intraperitonealdır. Arka yüzde musculus iliakus ve musculus psoas major ile komşuluğu vardır. İleumun ekuma açıldığı yerde ileoçekal valv (Bauchini valvi) bulunur. Bu valv ince bağırsağın kolon içine girmesiyle oluşur. Yarımay şeklinde iki dudaktan oluşan valv hem ileum içeriğinin kolona hızlı geçmesini, hem de kolon içeriğinin ileuma geri dönmesini engeller. ekm kolonun en geniş kısmıdır ve ortalama 8 cm çapındadır. ekm geniş bir lümene sahip olması ve duvarının ince olması ile intestinal obstrüksiyonlarda kolonun en sık perfore olan kısmıdır. ekmun alt i duvarında ve ileoçekal valvin yaklaşık 2-3 cm altında tenia kolilerin birleşim yerinde apendiks vermiformis bulunur. Göbek ile spina iliaka anterior sperioru birleştiren çizginin 1/3 dış kısmı (Mc Burney) noktası apendiks kökünü gösterir. Apendiks retroekal, retrokolik ve pelvik pozisyonlarda olabilir.

B. ıkan Kolon: Yaklaşık 15-20 cm uzunluğundadır. ekmdan karaciğer sağ lobunun alt kısmına kadar uzanır. Burada sola ve biraz öne doğru dönerek hepatik fleksurayı yapar. Kolonun bu kısmı duodenum ikinci kıtası n yüzünde yer alır. ıkan kolon arkada musculus kuadratus lumborum ve sağ

böbrek alt kısmı ile komşudur. Kolon burada karın arka duvarına Told fasiası ile tutunmuştur. Çıkan kolon retroperitoneal olup ön yüzü periton ile örtülüdür.

C. Transver Kolon: Kolonun en uzun kısmıdır. Hepatik fleksuradan başlayıp sola doğru ilerler ve dalak alt kısmında aşağıya dönerek splenik fleksurayı oluşturur. İntraperitoneal olan transvers kolon karın arka duvarına transvers mezokolon ile tutunur. Arkada duodenum ikinci kıtası ve pankreas, üstte ise mide büyük kurvaturu ile komşudur.

D. İnen Kolon: Splenik fleksuradan sol iliak fossaya kadar uzanır. Çıkan kolona göre daha derinde olup ortalama 25 cm uzunluğundadır. Kolonun en dar lümenine ve en kalın kas tabakasına sahip olan bölümüdür. Çıkan kolon gibi retroperitoneal olup ön yüzü periton ile örtülüdür. Arkada sol böbrek alt kısmı musculus kuadratus lumborum ve musculus psoas major ile komşudur. Sol üretere inen kolonun medialinde seyrederek. Bu nedenle kolonun bu kısmının serbestleştirilmesi ve rezeksiyonunda üreter dikkatle korunmalıdır. Ayrıca inen kolon arkada gonadal damarları çaprazlar.

E. Sigmoid Kolon: İnen kolonun distalinden başlayıp üçüncü sakral vertebra seviyesindeki rektosigmoid bileşkeye kadar uzanan kolon bölümüdür. Sigmoid kolon intraperitoneal olup ortalama 40 cm uzunluğundadır. Pelvisin sol tarafına yerleşmiştir. Arkada internal iliak damarlar, üreter ve sakral plaksus ile komşudur. Kolonun bu kısmında apendiks epiploikalar çoktur. Tenia koliler burada incelenerek devam eder ve rektosigmoid bileşkede tamamen kaybolur.

F. Rektum: Kolonun son bölümüdür. Üçüncü sakral vertebra hizasından başlayıp koksiksin alt kısmındaki anoraktal ringe kadar devam eder. Rektosigmoid bileşkede intra peritoneal yerleşimlidir. Kolonun diğer kısımlarında görülen tenia ve haustralar burada kaybolur. Ayrıca bu bölümde apendiks epiploika ve mezokolon da yoktur. Arkada sakrumun konkavlığına uygun bir şekilde aşağıya doğru uzanır. Rektum ortalama 12 cm uzunluğunda olup daha geniş olan alt kısmına ampulla denir. Rektumun 1/3 üst kısmı peritonla örtülüdür. Ön yüzü örten periton erkeklerde mesaneye geçerek batının en dip noktaları olan excavatio rectovezicalis'i, kadında ise uterusu geçerek excavatio rectouterina'yı (Douglas poşu) oluşturur. Rektumun 2/3 alt kısmı ekstraperitonealdir.

G. Anal Kanal: Ampullanın daraldığı yerden başlayan ve arkaya doğru seyreden yaklaşık 4 cm'lik bölümdür. Anal kanal sfinkter kasları ile sarıdır ve normalde kapalıdır. İlk 2 cm'lik bölümü silindirik epitelle döşelidir. Alt kısım çok katlı yassı epitelle örtülüdür. Bu iki bölgeyi birleştiren çizgiye linea pectinea veya dentata denir. İnternal hemoroidal pakeler bu çizgiye yer alır. Anüsün çevresindeki eksternal ve internal olmak üzere iki sfinkter bulunur. Eksternal sfinkterler çizgili kas liflerinden oluşur ve motor sinirlerle inerve edilirken internal sfinkterler düz kas liflerinden oluşur ve otonom sinirlerle inerve edilir.

H. Arterleri: Kolonun sağ yarısı (çekum, çıkan kolon, sağ transvers kolon) arteria mezenterika süperiordan beslenir. Bu arterin kolonun sağ yarısını besleyen dalları arteria ileokolika, arteria kolika dekstra ve arteria kolika media'dır. Splenik fleksuradan sonraki kolon kısmını arteria mezenterika inferior besler. Bu arterin dalları olan arteria kolika sinistra splenik fleksura ve inen kolonu, arteria sigmoidea ise sigmoid kolonu kanlandırır. Kolik arterler mezenter içinde ve kolona 2,5 cm mesafede yan dallar verirler. Süperior ve inferior mezenterik arterlerin birbiri ile anastomoz yapan bu dalları Riolan arkını oluştururlar. Rektumun üst kısmını inferior mezenterik arterin uç dalı olan arteria rektalis süperior, orta ve alt kısmını ise internal iliak arterin dalları olan arteria rektalis media ve inferior besler.

I. Venleri: Kolorektal venler arterlerle beraber seyreder ve aynı adı alırlar. İnterior mezenterik ven retroperitoneal alanda yukarıya doğru çıkar ve pankreas başının altından geçerek portal vene dökülür. Vena hemoroidalis süperior, vena mezenterika inferior yolu ile portal sisteme, vena hemoroidalis media ve inferior ise internal iliak ven yolu ile sistemik dolaşıma drene olurlar. Böylece bu bölgede portokaval bir anastomoz oluşur.

J. Sinirleri: Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun 2/3 sağ kısmı sempatik sinirlerin çölyak ve süperior mezenterik pleksustan, parasempatiklerini nervus vagustan alırlar. Transvers kolon 1/3 sol kısmı, inen kolon sigmoid ve rektum sempatik sinirlerini süperior hipogastrik ve lomber sempatik ganglionlardan, parasempatiklerini ise pelvik splanknik sinirlerden (nervus erigentes) alırlar. Sempatik ve parasempatik sinir lifleri bağırsak duvarı içinde iki

pleksus yapar. Bunlardan submukozal olana Meissner pleksusu myenterik olana Auerbach pleksusu denir.

K. Lenfatikleri: Kolon ve rektumun mukoza ve seroza altında olmak üzere iki lenfatik pleksusu vardır. Bu pleksuslar mezenter içinde bulunan ve kan damarına komşu lenf nodlarına drene olurlar. Kolonun lenfatikleri dört ana gruptan oluşur.

1- Epikolik ganglionlar: Kolon duvarının hemen yanında yer alırlar.

2- Parakolik ganglionlar: Marjinal arterler etrafındadır.

3- İntermedier ganglionlar: Mezenter içinde yer alırlar.

4- Prinsipal ganglionlar: Mezenterik arter ve venin kökleri etrafındadır.

Rektum üst kısmının lenfatikleri paraaortik lenf ganglionlarına, orta kısmın lenfatikleri internal iliak ganglionlara, alt kısmının lenfatikleri ise inguinal lenf ganglionlarına drene olur.

Rektum üst kısmının lenfatikleri paraaortik lenf ganglionlarına, orta kısmın lenfatikleri internal iliak ganglionlara, alt kısmının lenfatikleri ise inguinal lenf ganglionlarına drene olur.

2.3. Histoloji

A. Kolonik mukoza: Lümeni ve kriptleri döşeyen tek katlı kolumnar epitel, lamina propria ve mükölaris mukozadan oluşmaktadır.

Epitel: Yüzey epiteli tek katlı kolumnar veya küboidal epitelden oluşmakta olup lümen ve kolon dokusu arasında bariyer oluşturmaktadır. Başlıca hücre tipleri absorbtif ve goblet hücreleridir. Her iki hücre tipi de bazal membran üzerine oturmuştur ve yüzeye doğru polarizasyon göstermektedirler. Absorbtif hücreler iyon ve su transportundan sorumludurlar. Yüzeyleri mikrovillus yapılarıyla örtülü olup sitoplazmaları eozinofilik yapıdadır ve mükösin içermezler. Nükleusları üniform oval şekilli, bazal yerleşimli ve kolumnar yapının uzun eksenine paralel dizilimdedir ve sıklıkla belirgin nükleole sahiptirler. Goblet hücreleri kadeh şekilli hücreler olup müköz granüllerin sentezi, depolanması ve salgılamından sorumludurlar. Rutin H&E boyamada ışık mikroskobu altında sitoplazmaları boş olarak izlenirken mükösin boyama ile granülleri belirgin hale gelir. Bazal yerleşimli ve absorbtif hücrelere göre daha koyu boyanan nükleusa

sahiptirler. Normal histolojik yapıda yüzey epitel hücreleri arasında lenfositler ve nadiren de eozinofiller gözlenir. Çok nadir olarak apoptotik vakuoller, hücre sel debris ve nükleer artıklar izlenebilir. Bazal membran 2-3 mikron kalınlığındadır. Ana bileşeni Tip IV kollajendir ve bazal membran iyon, su, protein absorpsiyonuna ve sekresyonuna permeabl yapıdadır. İçerdiği fenestralarla lamina propriadan yüzey epiteline doğru lenfosit geçişine de müsait ortam sağlarlar. Kriptler (Lieberkühn kriptleri) yüzey epiteli gibi tek katlı silindirik hücre tabakasıyla örtülü olmakla birlikte daha heterojen hücre yapısına sahiptir. Kriptlerde absorbtif hücre ve goblet hücrelerine ek olarak immatür ve andiferansiye prekürsör hücreler, endokrin ve Paneth hücreleri bulunmaktadır. Paneth hücreleri piramidal şekilleri ve supranükleer eozinofilik granülleri ile ışık mikroskopunda rahat tanınabilirken endokrin hücreler subnükleer ve Paneth hücrelerine göre daha küçük granüller içermeleriyle ayırt edilirler.

Lamina propria: Yüzey epiteli-kriptler ve mükölaris mukoza arasında kalan gevşek bağ doku, sinir uçları ve immün sistem hücrelerinden oluşan katmandır. Başlıca görevi intestinal içerikten sızan zararlılara karşı lokal immün cevabı oluşturmaktadır. Başlıca hücre tipleri helper/sitotoksik lenfositler, IgA sekresyonuyla lokal immüniteyi sağlayan plazma hücreleri, antijen işleme ve sunma görevlerinde aktif makrofajlar, fibroblastlar, az sayıda eozinofil, mast hücresi, nötrofillerdir. Lenfositler kolonda diffüz olarak dağıldığı gibi lenfoid folliküller halinde de yaygın olarak lokalizedirler.

Mükölaris mukoza: Kalınlığı lokalizasyonuna göre değişmekle birlikte genellikle ince bir düz kas tabakasıdır. Kolonun uzun eksenine paralel dizilmekle beraber lamina proprianın üst kısımlarına kadar ayrıca demetler halinde uzanarak kasılmalarıyla sindirim işlevlerini kolaylaştıran mukozam hareketliliği sağlarlar.

B. Submukoza: Damar yapılarından oldukça zengindir ve lamina propria ile benzer hücre sel elemanlar içermekle birlikte ek olarak farklı hücre popülasyonu nöral pleksuslardır. Başlıca iki grup pleksus içermektedir. İlki lamina propriayaya yakın olan Meissner pleksusu ve ikincisi mükölaris proprianın iç yüzüne yakın Henle pleksusudur. Pleksuslarda ganglion hücreleri, aksonlar ve Schwann hücreleri ışık mikroskopunda net olarak izlenebilmektedir.

C. Müskülaris propria: İç kısmında sirküler ve dış kısmında longitudinal olmak üzere iki yapraktan oluşan kalın düz kas tabakasıdır ve kolonun esas motilitesinden sorumludur. Sirküler ve longitudinal kas tabakaları arasında submukozal alandakilerin homoloğu Auerbach pleksusu mevcuttur.

D. Seroza, subserozal zon: Seroza, viseral peritondur ve kolonun tek katlı mezotelyal hücre tabakası ile örtülü dış yüzeyidir. Mezotelyal hücrelerin hemen altında fibroelastik dokudan, mezenterik alanda ise yağ dokudan zengin alan subserozal zon olarak isimlendirilmektedir.

2.4. Fizyoloji

Kolonun başlıca fonksiyonları; depo, absorpsiyon ve defekasyondur. Tüm bu fonksiyonlar nöral, hümmoral ve müsküler yapıların lokal ve santral seviyelerdeki yakın koordinasyonu ile sağlanmaktadır. İleoçekal bileşke, terminal ileumun özellikli bir segmenti olup kimusun ince bağırsaktan kolona geçişini regüle etmektedir. Kolon, kendisine ulaşan enterik içeriğin volümünü içindeki su ve elektrolitlerin % 90'ını absorbe ederek azaltır. Kolona ulaşan 1,5 litre içeriğin 1,4 litresi emilir, kalan 0,1 litre ise feçesle atılır. Sağlıklı bireylerde kolon; su, sodyum ve klor absorbe ederken bikarbonat ve potasyum sekrete eder. Yaklaşık olarak fekal içeriğin 1/3'ü canlı bakteriden oluşur. Kolonik flora anaerobik bakterilerden oluşarak zararlı patojenlerin yerleşmesine karşı kalkan görevi görür ve aynı zamanda organizma için gerekli bazı vitaminlerin (K, B12, tiamin, riboflavin) sentezinde rol oynar. Defekasyonu başlatan stimulus rektumdaki distansiyondur. Sol kolonun distansiyonu peristaltik dalgaları başlatarak, fekal kitlenin rektuma ilerlemesini sağlar ki normal olarak bu durum günde bir ya da çok kez gerçekleşebilir.

2.5. Epidemiyoloji

Kolorektal kanser, Kuzey Amerika ve Batı Avrupa ülkeleri başta olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak rastlanan ve kanser ile ilişkili ölümlerin yaklaşık % 10'undan sorumludur (9). Kanserden ölüm nedenleri sıralamasında erkeklerde akciğer kanserinden sonra, kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci sırayı

almaktadır (1). Kolon kanser sıklığı ülkede yörelere ve topluluklara göre farklılıklar göstermektedir. Bu farklılığın diyet ve çevresel faktörlerin farklılık göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Kolon kanserinin üçte ikisi sol kolonda, üçte biri sağ kolonda görülmekte % 3'ünde aynı anda birden fazla odakta birden belirmektedir (9).

Erkek/kadın oranı 1,34'tür. Hayat boyu kolorektal kanser görülme oranı erkeklerde % 6,14, kadınlarda % 5,92'dir (9). Yaşın ilerlemesi ile kolon kanseri gelişme riski arasında doğru orantı vardır. Genel popülasyonda 40 yaşından sonra kolon kanser gelişme riski artmaya başlar ve her dekatta katlanarak artar. Kolon kanserinin % 90'dan fazlası 50 yaşından sonra geliştiğinden, tarama programlarını başlatma yaşı buna göre belirlenmiştir. En sık hastalık görülme yaşı 60-65'tir ve ortalama tanı yaşı 62'dir (9).

2.6. Etiyoloji

Kolon kanseri gelişimine etkisi olduğu düşünülen faktörler arasında; diyet, çevresel faktörler, yaş adenom ve karsinom öyküsü, özellikle inflamatuvar bağırsak hastalığı olmak üzere diğer predispozan hastalılar ve aile öyküsünün olması sayılabilir (9, 10).

Diyet: Endojen ve ekzojen karsinojenik etkenler, hatalı beslenmeye bağlı koruyucu maddelerin eksikliği kolon mukoza epitel hücrelerinin rejenerasyon direncini, mukus kalitesinin kaybına neden olmaktadır. Tüm faktörler bağırsak epiteli ile direkt temasta olan intralüminal mikrofloranın ve içeriğin değişmesine, epitel hücre membranlarında yağ asit oranlarının yükselmesine, lipid peroksidasyon radikallerinin artmasına neden olur. Kolon kanseri yağ tüketimi daha az olan toplumlarda daha az sıklıkta görülür. Diyet yağ alımıyla karaciğer tarafından kolesterol ve safra asidi sentezi artar. Diyet yağ alımıyla karaciğer tarafından kolesterol ve safra asidi sentezi artar. Kolon bakterileri bu bileşikleri sekonder safra asitlerine, kolesterol metabolitlerine ve diğer toksik metabolik bileşiklere dönüştürür. Safra asitleri ve serbest yağ asitlerinin kolon mukozasında hasar yaptığı ve epitel hücrelerinin proliferatif aktivitesinde artışa yol açtığı gösterilmiştir. Balık ve tavuk eti yerine kırmızı et tüketiminin artması, kolon kanseri insidansında artmayla ilişkili bulunmuştur (11,12) Epidemiyolojik

çalışmalarda sebze ve meyve tüketimi, kolon kanseri riskiyle ters orantılıdır. Diyetteki lif, dışkı hacmini ve buna bağlı transit hızını artırarak intraluminal karsinogenlerin mukoza ile temasını azaltırlar (9, 13). Sınırlı sayıda veri, vitamin A ve vitamin C'den zengin beslenmenin kolon kanserinden korunmada antioksidan etki yaptığını göstermiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda folatın diyetle eklenmesiyle kolorektal adenom ve kanser riskini azalttığı gösterilmiştir. Fazla miktarda alkol tüketimi, güçlü antifolat etki göstererek yüksek kolorektal karsinomu riskiyle ilişkilidir. Vitamin D ve metabolitlerinin kolonda karsinogenezi önlediğini destekleyen çalışmalar vardır. Kalsiyum ve D vitamini büyük oranda birlikte etki ederek kolonda adenom rekürrens riskini azaltırlar. Son yapılan çalışmalarda, kalsiyum eklenmesiyle tekrarlayan kolorektal adenom riskinde azalma olduğu saptanmıştır. Kalsiyumun, sekonder safra asitlerini ve iyonize yağ asitlerini bağlayarak etkili olduğu düşünölmektedir. (14, 15).

Nonsteroid Antiinflatuar İlaçlar: Nonsteroid antiinflatuar ilaçların kanserden koruma mekanizması bilinmemekle birlikte, prelinik ve klinik kanıtlar nonsteroidal antiinflatuar ilaçların prostaglandin sentezini azaltarak kolorektal kanser insidansını azalttığını göstermektedir. Klinik vaka kontrollü çalışmalarda aspirin ve diğer nonsteroidal antiinflatuar ilaçları alanlarda, almayanlara göre kolorektal kanserle ilişkili mortalitede % 40-50 azalma olduğu gösterilmiştir (16).

Obezite: Epidemiyolojik çalışmalarda bel çevresi-kalça oranı ve kolon kanseri arasında ilişki gösterilmiştir. Fiziksel aktivite de kolon kanseriyle ters ilişkili bulunmuştur. Adiponektin, adipoz doku tarafından salgılanan yakın zamanda tanımlanmış bir mediyatör olup obezitede düzeyi azalmaktadır. Kolonik epitelyal kanser hücreleri üzerine proinflatuar ve büyümeyi uyarıcı etkileri vardır. Yapılan çalışmada kolorektal adenomların sayısı ve adenomun boyutu, artmış viseral yağ birikimi ve azalmış plazma adiponektin düzeyi ile ilişkili bulunmuştur (17).

Çevresel Faktörler: Asya, Afrika ve Güney Amerika gibi kolon kanserinin az göröldüğü bölgelerden, sık göröldüğü bölgelerde göç edenlerde kolon kanseri görölme sıklığının göç ettikleri bölgede yaşıyanların düzeyine

çıkması, kolon kanser sıklığı bulunan Japonya'dan ABD'ye göç edenlerde kolon kanseri görülme sıklığının 2,5-3 kat arttığı belirlenmiştir (9, 13).

Sigara: Japon erkek ve kadınlarını içeren bir çalışmada, sigara öyküsü ile adenom gelişme riskinin 1,6-4,5 kat arttığı bildirilmiştir (18) .

İnflamatuvar bağırsak hastalığı: Özellikle ülseratif koliti olanlarda daha belirgin olmak üzere inflamatuvar bağırsak hastalığı olanlarda risk artmıştır. Distal kolitte risk en düşüktür. Bir meta analizde, kanser riski tüm ülseratif kolitli hastalarda % 3,7 iken pankolitlilerde % 5,4 bulunmuştur. Uzun süreli kolit, yaygın tutulum (pankolit), ailede kolorektal kanser öyküsü olması, primer sklerozan kolanjit ve hastalığın süresi risk artışında önemli bulunmuştur. Toplam risk, hastalık süresi 8-10 yıl olanlarda % 2, 20 yılı geçenlerde % 8 ve 30 yıl olanlarda % 18-20 olarak bulunmuştur. Sekiz yılı aşan yaygın kolit varlığında total proktokolektomi düşünülmelidir (12). Kolon kanseri, Crohn hastalığının önemli bir komplikasyonudur. Crohn hastalığında kalın bağırsak karsinomu gelişme riski, normal popülasyondan 2-3 kat daha yüksek, ülseratif kolitten daha düşüktür (19).

Özgeçmişte Adenom ve Karsinom: Yapılan çalışmalara göre kolorektal kanserlerin büyük bir kısmı daha önce var olan adenomlardan kaynaklanmaktadır. Kanser gelişme riski, adenomların sayısı ile artar. Çapı 1 cm'den büyük olan, villöz karakterde, şiddetli displazi gösteren adenomlarda kanser riski artmıştır (10, 20). Meme, endometriyal, over kanseri olan kadınlarda da kanser riski yüksektir (10).

A. Herediter Polipozis Kolorektal Kanser (HPC): Polipozis sendromları ile ilişkili neoplastik poliplerin zemininden gelişirler. Senkron ya da metakron kolorektal kanserler olup, sporadik vaklara oranla daha genç yaşlarda görülürler. Polipozis zemininde gelişen kolorektal kanserler familyal adenomatöz polipozis (FAP), Gardner, Turcot ve son yıllarda tanımlanan flat (yassı) adenom sendromunda olduğu gibi otozomal dominant geçiş gösteren sendromlarda daha sık olarak görülmektedir. Gençlik yaşlarında oluşmaya başlar ve profilaktik total kolektomi yapılmazsa tüm hastalarda kolon kanseri oluşması kaçınılmazdır (10). Bu hastalığa yakalanan predispozan yaratan defektli APC tümör supresör geni taşıyanların hepsinde 55 yaşına gelindiğinde kolon kanseri gelişmektedir (21).

B. Herediter Nonpolipoz Kolorektal Kanser (HNPPCC): Polipozis sendromları ile ilişkisiz olup Lynch sendromu olarak adlandırılırlar. Bunlar ekstrakolonik malignitelerle birlikte olup olmamalarına göre iki alt gruba ayrılırlar. Lynch-1, genellikle erken yaşlarda başlar (ortalama 44 yaş), % 70'i proksimal kolonda lokalize olan, polipozis sendromu ile ilişkisi olmayan, otozomal dominant geçiş gösteren kolorektal kanserlerdir. Senkron ya da metakron olabilirler. Lynch-2, yukarıda tanımlanan belirtileri gösteren bireylerde ya da ailelerde ekstrakolonik malignitelerle birlikte görülen tümörlerdir. Bunlar; sıklık sırasına göre endometrium, over, üreteropelvik karsinomlar, mide, pankreas ve safra yolu adenokarsinomları, larinks, deri, meme ve yumuşak doku maligniteleridir. Herediter nonpolipoz kolorektal kanserli ailelerde yapılan çalışmalarda, tümörün daha çok sağ kolonda lokalize olduğu, müsinöz ve taşlı yüzük hücreli tiplerin daha baskın olduğu bildirilmektedir.

Diğer Faktörler: Önceden pelvik radyoterapi yapılanlarda, 5-10 yıl sonra yüksek kolon kanseri insidansı bildirilmiştir.

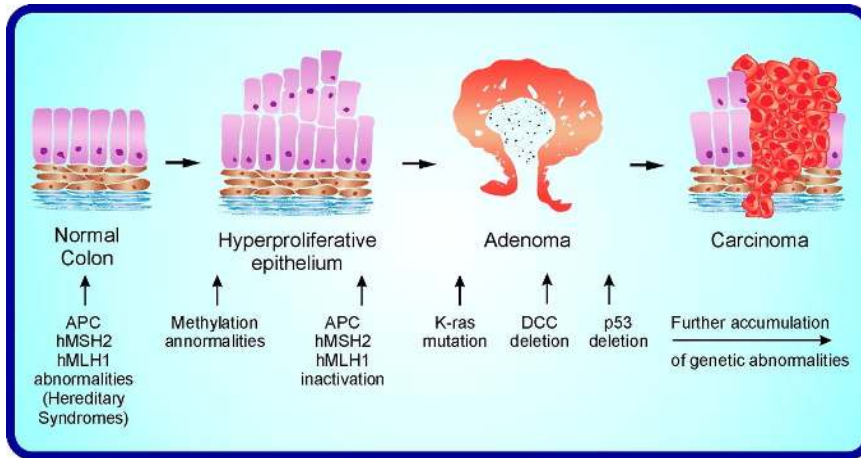
2.7. Kolorektal Karsinomlar

2.7.1. Karsinogenez ve patoloji

Günümüzde kolon kanseri gelişiminde patogenetik olarak farklı iki yol olduğu düşünülmektedir (22). Her iki yolakda da birbirini takip eden basamaklar halinde çok sayıda mutasyonun birikimi gözlenir. Buna karşın rol oynayan genler ve mutasyonların birikme mekanizmaları farklıdır.

APC/ β -katenin yolağı da denilen birinci yol bir seri onkogen ve tümör baskılayıcı genlerde adım adım basamaklı mutasyon birikimi ile sonlanan kromozomal instabilite ile karakterlidir. Bu yolak boyunca kolon kanserinin moleküler gelişimi morfolojik olarak da ayırt edilebilen bir seri evre üzerinden olur. Başlangıçta kolonda, lokal epitel proliferasyonu vardır. Bunu küçük adenom oluşması takip eder, adenom zamanla büyür ve displastik olur ve sonunda invaziv kanser gelişir. Buna adenom-karsinom sekansı denir (Şekil 2.1). Genetik değişiklikler bu morfolojik yolak ile şöyle ilişki gösterir:

Adenomatöz Polipozis Koli (APC) Gen Kaybı: APC geni 5q21’de haritalanmıştır. Bu genin mutasyonu FAP sendromunun genetik temelidir ve 1970’lerde Knudson tarafından geliştirilen “ilk darbe” kavramı oluşturur. Bu genin kaybının adenom oluşumunun en erken olayı olduğuna inanılır. Bu çift fonksiyonlu tümör baskılayıcı gen, mikrotübül demetlerini bağlayan ve hücre göçü ile adezyonu kontrol eden bir proteini kodlar. APC aynı zamanda Wnt/ β -katenin sinyal yolağında önemli bir mediyatör olan β -katenin düzeyini kontrol eden bir bekçi proteini olarak rol oynar. Ayrıca kolorektal kanserlerin % 80’den fazlasında inaktif APC, APC mutasyonunun olmadığı kanserlerin de %50’sinde β -katenin mutasyonları vardır. β -katenin kaderin temelli hücre adezyon kompleksinin bir üyesi olup eğer protein nükleusa geçerse bir transkripsiyon faktörü olarak da rol oynar.



Şekil 2.1. Adenoma-karsinoma dizgesinde (sekansında) morfolojik ve moleküler değişikliklerin şeması.

E-kaderin2’ye bağlanmadığı zaman hücre-hücre adezyonuna katılır. E-kaderin’e bağlı olmadığında ve hücre-hücre adezyonunda rol aldığında sitoplazmik bir degradasyon kompleksi (APC, Aksin, GSK-3 β ve β -katenin’den oluşur) β -katenin’in fosforilasyonuna ve degradasyonuna yol açar. APC mutasyonu olduğu zaman sitoplazmada β -katenin birikir. Ve nükleusa geçerek T-hücre faktörü veya lenfosit çoğaltıcı faktör (TCF veya LEF) proteinleri olarak bilinen bir transaktivasyon bölgesine katılır. β -katenin-TCF kompleksi ile aktive

edilen genlerin c-MYC ve CYCLIN D1 gibi hücre proliferasyonunu ve apoptozu düzenleyen genler olduğu düşünülmektedir (13) .

APC geninde tanımlanan mutasyonlar “missense” mutasyonları ve delesyonlar olup, kısalmış APC proteinin üretilmesi ile sonuçlanır. Mutant β -katenin, normal hücrelerde β -katenin’i fosforile eden ve degrade eden bir kinaz olan GSK-3 β ’ya bağlanma afinitesini kaybeder. Sporadik karsinomların % 80’inde APC mutasyonları mevcuttur (13).

KRAS Mutasyonu: KRAS geni kolon kanserlerinde ve adenomlarında en sık görülen aktive olmuş onkogendir. KRAS hücre içi sinyal iletiminde rol oynar. KRAS mutasyonu 1cm’den daha küçük çaplı adenomların % 10’undan daha azında, 1 cm’den daha büyük adenomların % 50’sinde görülür.

SMAD’ların Kaybı: Kolon kanserlerinde ortak bir özellikte 18q21’de allel kaybıdır. Önceleri, bu bölgede bulunan DCC’nin (deleted in colon cancer) kolorektal kanserleri etkileyen bir baskılayıcı gen olduğu düşünülürdü. Buna karşın DCC’nin her iki allellinin de bulunmadığı mutant farelerde hiçbir anomali görülmediğinden kolorektal karsinogenezde DCC’nin rolü tartışmalıdır (13).

P 53 Kaybı: Kolon kanserlerinin % 70-80’inde 17p kromozomunda kayıp bulunmuştur. Bu kromozomal delesyon p53 genini etkiler ve p63 geninin hücre siklusunun düzenlenmesindeki kritik rolünü bozar (13).

Telomeraz Aktivasyonu: Telomeraz, katalitik alt ünite olarak telomerik revers transkriptaz (TERT) içeren bir ribonükleoprotein kompleksidir. Telomer stabilitesini ve bütün kanser hücreleri için bir ön şart olan hücre ölümsüzlüğünü sağlamak için telomeraz aktivitesi gereklidir. Adenomların çoğunda telomeraz aktivitesi yoktur, fakat kolorektal kanserler de dâhil olmak üzere insan kanserlerinin büyük bir çoğunluğunda telomeraz aktivitesi artmıştır (13).

2.7.2 Lokalizasyon

Kolorektal karsinomların % 20’si rektum, % 10’u rektosigmoid, % 25’i sigmoid kolon, % 5’i inen kolon, % 15’i transvers kolon, % 25’i ise çekum ve çıkan kolon yerleşimlidir. Yaklaşık 2/3’ü rektosigmoid ve sol kolon, 1/3 ‘ü sağ kolonda görülür. % 3-6’sı multisentrik ve senkron olarak gelişebilir.

2.7.3. Tanı

Tümör Belirteçleri: CEA ve CA 19-9 kolorektal tümörlerin tanı ve takibinde kullanılan tümör belirteçleridir.

CEA klinikte kolorektal kanserler dışında, meme, mide, pankreas kanseri takibinde de sık kullanılan bir belirteçtir. Biyolojik yarılanma ömrü 2-8 gün olup, post-op 6-8 haftada normal seviyelere iner (23). Malignite dışında sigara ve alkol kullanma alışkanlığı ile mide, bağırsak sistemi, karaciğer ve akciğerin iyi huylu patolojilerinde de artış görülebilir (23, 24).

CA 19-9, klinikte kolorektal kanserler dışında, mide, pankreas, safra, yolları ve over kanseri takibinde de sık kullanılan bir belirteçtir. Biyolojik yarılanma ömrü 7 saat olup, post-op birkaç hafta içinde normal seviyelere iner. Malignite dışında sarılık, mide, bağırsak, pankreas, karaciğer, safra kesesinin benign lezyonları, diyabetik nefropati ve çeşitli romatizmal hastalıklarda da yükseldiği görülebilir (23). Her iki belirteçten herhangi birinin cerrahi sonrası düzeyinin artması tümör rekürrensini düşündürür (25, 23).

Kolonoskopi: Konvansiyonel kolonoskopi, tüm kolonun değerlendirilmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir (26, 27).

Bilgisayarlı Tomografi (BT): Kolon tümörü saptanan hastanın uzak metastazlarının tespiti, kitlenin komşu organlarla ilişkisi ve lenf nodlarının durumu hakkında bilgi vermektedir.

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR): Daha çok karaciğer metastazlarının değerlendirilmesinde, nükslerin tespitinde, BT sonuçları yeterli olmazsa başvurulabilir.

Pozitron Emisyon Tomografisi (PET): Fluorodeoksiglukozun tümör dokusu tarafından normal hücrelere göre daha hızlı kullanım esasına dayanır. Ekstrahepatik hastalık varlığını araştırmada ve BT ya da MR ile nüks-skar dokusu ayrımı yapılamayan hastalarda faydalıdır.

2.7.4. Makroskopik özellikler

Kolorektal karsinomlar polipoid, mantarimsı (ekzofitik), ülser-diffüz, infiltratif olabilir (28). Polipoid tipte yüzeyde ülser olabilir ve genelde nodüler,

lobüler, papiller sıklıkla adenom kalıntılı bir şekilde görülürler. Ülseroinfiltratif tipte ise santralde ülser vardır. Bu tipin bir varyantı olan flat veya deprese tipte polipoid tipten daha fazla lenfovasküler invazyon eğilimi vardır. Tümörlerin yaklaşık üçte ikisi ülseredir. Diffüz infiltrate tip karsinomlar normal mukozadan hafifçe kabarık olup, sıklıkla kitle yapmaksızın bağırsak segmentini çepeçevre sararlar. Mantarsı kanserle sıklıkla çekum ve çıkan kolonda görülürler. Lümene doğru büyüme eğilimindedirler.

2.7.5. Mikroskopik özellikler

Kolorektal Kanserlerde Histolojik Tipler

A- Epitelyal Tümörler

- 1- Karsinomlar
 - Adenokarsinoma, NOS
 - Müsinöz adenokarsinom
 - Taşlı yüzük hücreli karsinom
 - Skuamöz hücreli karsinom
 - Adenoskuamöz karsinom
 - Medüller karsinom
 - Küçük hücreli karsinom
 - Andiferansiye karsinom
- 2- Karsinoid tümör
- 3- Mikst karsinoid-adenokarsinomlar

B- Nonepitelyal Tümörler

- 1- Leyomyosarkom
- 2- Anjiosarkom
- 3- GİST
- 4- Melanoma
- 5- Lenfoma

C- Sekonder Tümörler

Adenokarsinom NOS: Kolon kanserlerinin % 90'ı NOS (Not Otherwise Specified) grubu adenokarsinomlardır (29). Bu tümörler gland yapılarının varlığı temel alınarak iyi, orta ve az diferansiye olarak üç derecede değerlendirilir.

İyi diferansiye tümörler: Tümörün % 95'inden fazlası gland benzeri yapı içerir.

Orta diferansiye tümörler: Tümörde gland benzeri yapı % 50-95 oranındadır.

Kötü diferansiye tümörler: Gland benzeri yapı % 50'den azdır (29).

Müsinöz karsinom: Kolorektal karsinomların % 10-15'ini ve rektal kanserlerin % 33'ünü oluşturur. Müsinöz karsinom tanımlaması için tümörün % 50'den fazlasının müsin içermesi gerekmektedir (29). Müsinöz karsinom en sık rektumda (% 61,5) ve sigmoid kolonda (% 15,3) gözlenir. Bazı vakalarda hücre içi ve hücre dışı müsin karışık halde bulunur. Hücre içi müsin oluşumu taşlı yüzük yapısına sebep olur. Bu tümörler MUC2 proteini içeren müsin salgırlar. Müsin, periodik asid Schiff (PAS), müsikarmen ve asidik anilin mavi boyama pozitifler. Klasik adenokarsinomlar gibi adenomlardan kaynaklanırlar. Bir çalışmada villöz adenomlarla % 31, ülseratif kolitle % 7, kolitle % 8, önceden uygulanan pelvik radyasyonla % 5 birliktelik saptanmıştır. Müsinöz karsinomlar klasik karsinomlardan farklı klinik ve patolojik özellik taşır. Bu tümörler sıklıkla genç ve HNPCC hastaları etkiler. Hayatının ilk üç dekadında kolorektal kanserli hastaların % 83-79'unda baskın olarak müsinöz adenokarsinom görülür. Başvuru zamanı ileri evredir ve prognozu klasik adenokarsinomdan daha kötüdür.

Taşlı yüzük hücreli karsinom: Genelde genç hastalarda görülür. Kolorektal kanserlerin yaklaşık % 1,1'ini oluşturur. Taşlı yüzük hücreli karsinomu olan hastalarda klasik adenokarsinoma göre tanı anında tümör daha fazla yayılmış olarak izlenir. Neoplastik hücrelerle yaygın intramural infiltrasyon inflamatuvar bir tabloyu düşündürür. Diffüz ve dairesel bağırsak duvarı infiltrasyonu sonucu intestinal segmentte kalınlaşma ve katılaşma oluşur ki buna kolonik linitis plastica denir. İleri dönemde intestinal duvarda daralma, yaygın lenf nodu metastazı ve periton yüzeyine yayılım görülür. Metastazlar daha çok lenf nodları, peritoneal yüzey ve overlerde gelişme eğilimindedir (24). Mikroskobik olarak müsinin çoğu veya hepsi hücre içindedir. Tanı için tümör hücrelerinin % 50'den fazlası

intrasisitoplazmik müsin içermelidir. Hücre içi m sinden dolayı nükleusun itilmesi ile (ekzantrik yerleşim) taşlı yüzük yapısı oluşur (30). Taşlı yüzük hücreli karsinomun biyolojik davranışı müsinöz karsinomdan kötüdür (31). Primer taşlı yüzük hücreli karsinom tanısı verilmeden önce mide veya meme kanserinin kolorektuma metastazı olup olmadığı araştırılmalıdır.

Skuamöz karsinom: Çekum neoplazilerinde daha sıktır ama kalın bağırsağın diğer bölgelerinde de görülebilir. Çoğu kez adenoskuamöz karsinom olarak isimlendirilen skuamöz bileşen glandüler elemanlar ile beraber g r ld ğ  formdadır. Saf skuamöz karsinom nadirdir.

Medüller karsinom: Genelde kadınlarda, çekum ve sağ kolon yerleşimlidir ve nadir görülür. Tümör hücreleri malign hücre adaları oluşturur. Hücreler veziküler nükleuslu, belirgin nükleoluslu, bol pembe sitoplazmalıdır. Tümör adaları çevresinde ve intraepitelyal olarak lenfositler görülür. Nöroendokrin belirteçler negatiftir. Davranışı histolojik görünümü kadar saldırgan değildir.

Küçük hücreli karsinoma: Kromogranin-A, sinaptofizin, nöron spesifik enolaz pozitivitesi gösterir ve prognozu kötüdür.

Andiferansiye karsinom: Çok saldırgan davranışa sahiptir. Diğer organların anaplastik karsinomlarıyla özdeş morfolojide olduğundan primer sekonder tümör ayırımı önemlidir (29).

2.7.6. Evreleme

Kolorektal karsinomlarının evrelemede eskiden Dukes ve Astler-Coller sınıflamaları yaygın olarak kullanılmış iken günümüzde AJCC ve UICC'nin tümör, lenf nodu ve metastaz komponentlerini gruplandırmasıyla ortaya koyduğu TNM evrelemesi ve evreleme sistemi kullanılmaktadır. (şekil 2.2).

**Kolorektal Karsinomlarda Patolojik TNM Evrelemesi
(pTNM) (AJCC 2009)**

Primer Tümör (pT)

- pTx : Tümör varlığı değerlendirilemedi
pT0 : Tümör yok
pTis : Karsinoma in situ, intraepitelyal alanda
pTis : Karsinoma in situ, lamina propria invazyonu mevcut
pT1 : Tümör submukozaya invazedir
pT2 : Tümör mürskularis propriaya invazedir
pT3 : Tümör mürskularis propriayı aşarak perikolorektal dokuya invazedir.
pT4a : Tümör viseral peritona invazedir
pT4b : Tümör direkt olarak diğler organ/dokulara invazyon veya yapışıklık oluşturmıştır

Bölgesel Lenf Nodları (pN)

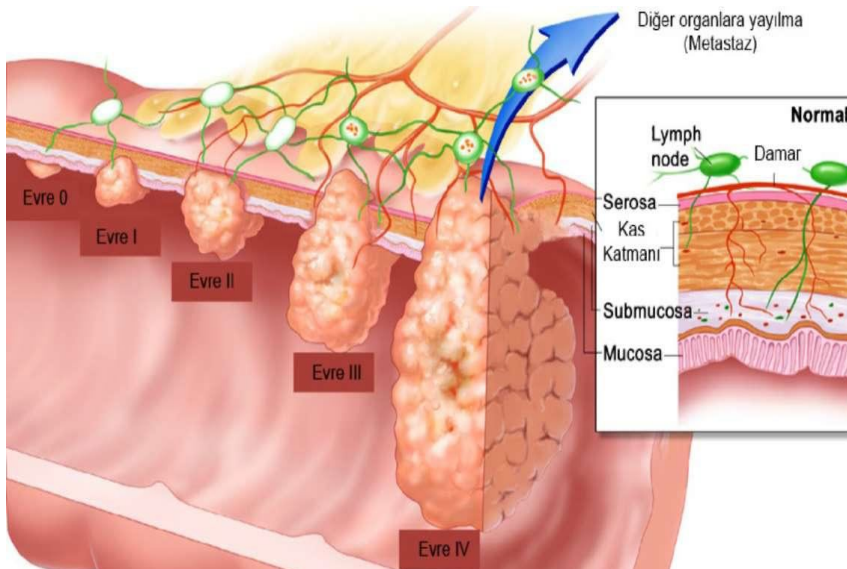
- pNx : Bölgesel lenf nodu metastazı değerlendirilemedi
pN0 : Bölgesel lenf nodu metastazı yok
pN1a : 1 adet bölgesel lenf nodu metastazı mevcut
pN1b : 2 veya 3 adet bölgesel lenf nodu metastazı mevcut
pN1c : Bölgesel lenf nodu metastazı olmadan subseroza veya peritonla örtülü olmayan perikolik/perirektal dokuda tümör depozitleri mevcut
pN2a : 4, 5 veya 6 adet bölgesel lenf nodu metastazı mevcut
pN2b : 7 veya daha fazla bölgesel lenf nodu metastazı mevcut

Uzak Metastaz (pM)

- pM0 : Uzak metastaz yok
pM1a : Bir uzak organ/bölgede metastaz mevcut
pM1b : İki veya daha fazla uzak organ/bölgede veya parietal peritonda metastaz mevcut

Evreleme Sistemi

Evre 0	: Tis N0 M0
Evre I	: T1 N0 M0
	: T2 N0 M0
Evre IIA	: T3 N0 M0
Evre IIB	: T4a N0 M0
Evre IIC	: T4b N0 M0
Evre IIIA	: T1-T2 N1 M0
	: T1 N2a M0
Evre IIIB	: T3-T4a N1 M0
	: T2-T3 N2a M0
	: T1-T2 N2b M0
Evre IIIC	: T4a N2a M0
	: T3-T4a N2b M0
	: T4b N1-N2 M0
Evre IVA	: Herhangi T Herhangi N M1a
Evre IVB	: Herhangi T Herhangi N M1b



Şekil 2.2. Kolorektal karsinom evrelerinin sembolik görünümü.

2.7.7. Tedavi

Kolorektal kanserlerin primer tedavisi cerrahidir. Kemoterapi ve radyoterapi yardımcı tedavi yöntemleridir.

Cerrahi tedavi: Cerrahi tedavi prensipleri tanı evresine göre değişir. Uzak organ metastazı olmayan tümörlerde küratif rezeksiyon uygulanır. Tümörün lokalizasyonuna göre uygulanan bağırsak segmenter rezeksiyonları değişmektedir. Klasik olarak tümör proksimalinde 15-20 cm, distalinde ise 5 cm'lik sağlam bağırsak ansını içine alacak şekilde bir rezeksiyon yapılmalıdır. Çekum ve çıkan kolon tümörlerinde sağ hemikolektomi, transvers kolon tümörlerinde transvers kolektomi, splenik fleksura ve inen kolon kanserlerinde sol hemikolektomi uygulanır (32). Sigmoid kolon, rektosigmoid bölge ve rektum üst 1/3'ünde lokalize tümörlerde anterior rezeksiyon, rektum orta 1/3'ünde lokalize tümörlerde low anterior rezeksiyon ve rektum alt 1/3'ünde lokalize tümörlerde abdominoperineal rezeksiyon (Miles operasyonu) seçkin küratif rezeksiyon seklidir.

Metastatik hastalıkta; eğer tek bir hepatik metastaz veya bir lobda çok sayıda metastaz saptanır ve karaciğer dışı hastalık bulgusu saptanmaz ise bu lezyonların rezeksiyonu seçilecek tedavidir. Bu yaklaşım uzun dönemli hastaliksız yaşam için tek çaredir ve % 25-35 oranında 5 yıllık hastaliksız yaşam sağlar. Akciğer metastazlarında ise < 3 cm olan lezyonlar çıkarılmalıdır.

Kemoterapi: Günümüzde kolorektal kanser tedavisinde en sık kullanılan kemoterapötik kombinasyon adjuvan FOLFIRI (5-FU, Leucovorin, Irinotecan) veya FOLFOX (5-FU, Leucovorin, Oxaliplatin) rejimleri olup tedavinin değişik aşamalarında Anti-EGFR Monoklonal Antikorları (Cetuximab, Panitumumab), veya Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) blokörleri (Bevacizumab) eklenebilmektedir. Küratif cerrahi rezeksiyon sonrasında nüks ve metastazların önlenmesi amacıyla adjuvan kemoterapi uygulanabilir (33).

Radyoterapi: Kolorektal kanserler genellikle radyoterapiye dirençlidirler. Ancak preoperatif dönemde adjuvan olarak, postoperatif dönemde ise nüksleri önlemek amacıyla kullanılabilir (33).

2.7.8. Prognoz

Kolon kansinomlarında en önemli prognostik faktör tanı anındaki tümör evresidir (12, 34). Evrelere göre 5 yıllık sağkalım oranları evre I için % 99, evre II için % 85, evre III için % 67 ve evre IV için % 14'dür. Diğer önemli prognostik faktörler: Histolojik grade ve tip, tümör lokalizasyonu, boyut, makroskopik yapı, cerrahi sınırlarda tümör varlığı, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, lenf nodu tutulumu, tıkanma ve perforasyon, peritümöral ve intratümöral lenfositik yanıt, serum CEA seviyesi, onkogen ekspresyonu, hasta yaşı ve cinsiyetidir (35).

2.8. Kolorektal Karsinomların Moleküler Genetiği

Kanser gelişmesi protoonkogenlerin aktivasyonu ve tümör supresör genlerin inaktivasyonunun kombinasyonu sonucu multifaktöriyeldir. Genetik değişiklikler; delesyonlar, amplifikasyonlar veya tek nükleotid mutasyonlarını içerir.

Malign tümörlerin % 73'ünde yüksek c-myc ekspresyonu gözlemlendiği ancak normal kolorektal mukozada bulunmadığı belirtilmiştir (36).

Kolorektal karsinomların davranışını belirlemede ana faktörlerden birinin p53 tümör supresör geninin mutasyonu olabileceği konusunda çalışmalar mevcuttur. p53 mutasyonu kolorektal karsinomların büyük çoğunluğunda bulunmuştur (14, 15). p53 geni 17. kromozomun kısa kolunda lokalizedir. (15, 17) p53 proteini, hücre çoğalması, diferansiyasyonu DNA tamir ve sentezi kontrolü ve programlanmış hücre ölümünde rol oynar. Apoptozisi bcl-2/Bax yolu üzerinden düzenler (37).

Kolorektal kanserlerin % 60'ında ve adenomların % 63'ünde APC geninde en azından bir adet somatik mutasyon vardır. 10 Kolorektal karsinomlu hastalarda normal kolon mukozası ile premalign adenomlar karşılaştırıldığında CpG alanında APC geninin promotor bölgesinin metile olduğu bulunmuştur (38, 39).

KRAS gen mutasyonu % 40 oranında izlenir ve MAPK yolağının fizyolojik etkisini potansiyalize ederek karsinogeneziste rol alır.

Mikrosatellit İnstabilitesi (MSI): DNA çift sarmalındaki yanlış eşleştirilmiş nükleotidlerin uzaklaştırılamaması, insersiyon ve delesyonların

ortaya çıkmasına neden olmaktadır. İnseriyon ve delesyonlar tümörde özellikle mikrosatellit olarak adlandırılan kısa DNA dizilerinin arka arkaya tekrarlandığı bölgelerde sık olup bu durum mikrosatellit instabilitesi olarak tanımlanmaktadır. Mikrosatellit instabilitesinden Lynch sendromlu hastaların belirlenmesinde bir tarama testi olarak yararlanılmaktadır (40).

BRAF gen mutasyonları: BRAF bir protoonkogendir. BRAF mutasyonlarının % 90'ı ekzon 15'te görülen V600E mutasyonu olup % 10'u ise ekzon 11'de görülmektedir (41).

Mismatch tamir geni mutasyonları: MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 genleri başta olmak üzere DNA hasarının yanlış eşleşme tamirini sağlayan koruyucu gen mutasyonları özellikle Lynch sendromlarında ve sporadik kolorektal karsinomların % 10-15'inde mevcuttur (42).

Bcl-2 bir protoonkogendir. Apoptozu engeller. Normal gastrointestinal sistemde kriptlerin bazal hücrelerinde ekprese edilmektedir. Kolorektal adenomların çoğunluğunda (85'den fazla) ekprese edilmekte ve invaziv karsinoma ilerlerken ekspresyon azalmaktadır.

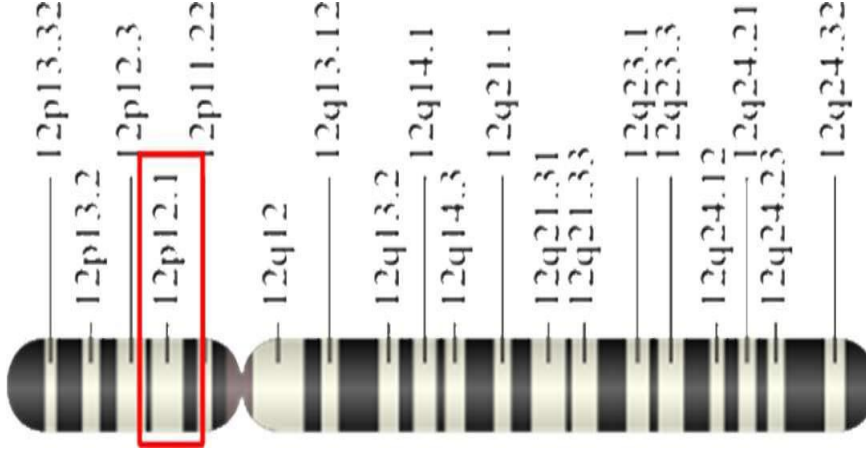
Kolorektal karsinom patogenezinde önemli rol oynayan bir diğer moleküler grup ise E-Kadherin ve p-Katenin'dir. Ayrıca büyük bir kısmında von Hippel Lindau geni delesyonu bulunmuştur.

2.9. KRAS Geni ve MAPK Yolağı

2.9.1. KRAS geni

KRAS bir protoonkogendir. Hücre membranlarıyla ilişkili bir G proteindir ve 12. Kromozomun kısa kolundaki KRAS geni tarafından kodlanır (Şekil 2.3). Moleküler biyoloji ışığında otuzun üzerinde değişik RAS geni tespit edilmiş olmakla beraber en önemli üyeler KRAS, HRAS ve NRAS olarak yerini korumaktadır. Hücre içerisinde birçok metabolik yollarda görevli olan RAS proteini, esas olarak proliferasyon, diferansiyasyon, adhezyon, migrasyon ve apoptoziste aktif rol oynayan MAPK yolağının ekstrasellüler sinyallerinin nükleusa iletiminde rol oynar. KRAS geninin germline mutasyonları Noonan sendromu ve Kardiyo-Fasio-Kutanöz sendrom (43) ile ilişkili bulunmuşken

somatik mutasyonlarının başlıca kolorektal kanser (44), akciğer kanseri (45), pankreas kanseri (46) ve lösemilerle yakın ilişkisi tespit edilmiştir.

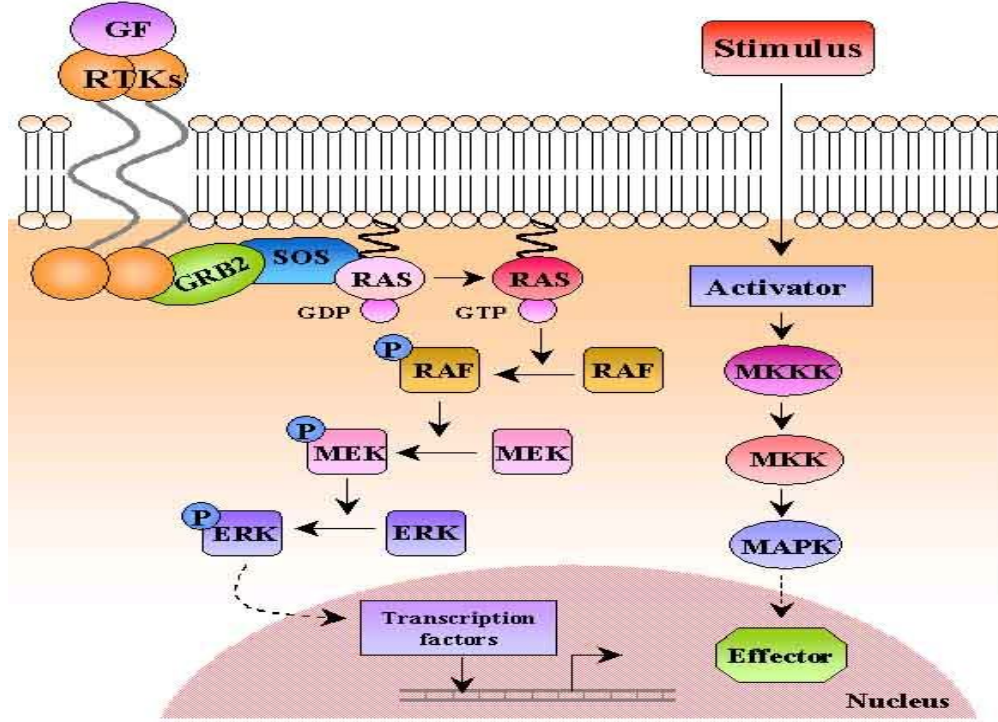


Şekil 2.3. KRAS geninin kromozomal lokalizasyonu.

2.9.2. MAPK Yolağı

Fizyolojik ortamda EGFR'nin başta EGF ve TGF-a olmak üzere çeşitli ligandlarla etkileşimi sonrasında sinyal EGFR sitoplazmik kısmına iletilir. Reseptörün sitoplazmik kısmı tirozin kinaz aktivasyonuna sahiptir. Bu ileti sonrasında tirozin kinaz aktivasyonu gerçekleşir ve EGFR tirozin rezidüleri üzerinde fosforile hale gelerek aktivasyon kazanır. Ardından GRB2 molekülü aktive reseptörün fosfotirozin rezidülerine bağlanır ve bu bağlanmanın ardından SOS proteini ile kompleks yaparak SOS'in aktivasyonunu sağlar. SOS aktivasyonu KRAS proteinini inaktif durumda tutan GDP'yi, KRAS proteininden ayırıp GTP ile bağlanmasını sağlar. Bu noktadan sonra GTP-KRAS molekülü sinyalin yolağın bir sonraki aşamasına iletimini sağlayacak aktivasyon kazanır. KRAS endojen GTPaz aktivitesine sahip bir molekül olup aktif kompleksteki GTP, GTPaz ile yıkılıp GDP oluşarak inaktif GDP-KRAS dimerik yapı oluşana kadar sinyal iletimi EGFR'den bağımsız olarak kesintisiz devam eder. Aktif GTP-KRAS kompleksi bir sonraki aşama olarak RAF proteinini aktivitesini stimüle ederek sinyalin iletimini sağlar. Ardından aktif RAF'ın MAPK multimoleküler yapıyı aktive etmesi nihayetinde hücre nükleusunda fizyolojik ölçülerde

proliferasyon, diferansiyasyon, adhezyon, migrasyon, apoptozis inhibisyonu vb. sinyallerin gelişimine neden olur. Bu kaskada kısaca MAPK yolağı denmektedir (47, 48, 49) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. MAPK yolağı.

Nükleusta sonlanan sinyal iletimi kaskadın otokontrolünü sağlamak amacıyla GAP (GTPase-Activating Protein) molekülünün sentezini stimüle eder. GAP, GTP-KRAS kompleksine bağlanıp endojen GTPaz etkisini artırarak sinyalin negatif feedback kontrolünü sağlar. Bu yolağın ilk basamağını oluşturan EGFR'nin gen kopya sayısının artması ise bu kaskadın aşırı aktivasyonu sonucu neoplazi yönünde işlemesine yol açmaktadır (50, 51, 52). Bu nedenle MAPK yolağı kanser tedavisine yönelik çalışmaların ana hedeflerinden biri haline gelmiştir. Son yıllarda geliştirilen EGFR'nin spesifik blokörlerinin önemli endikasyonlarından biri metastatik kolorektal karsinomlardır. Yapılan çalışmalar EGFR'nin tüm epitelyal tümörlerin % 30'unda rol aldığının, kolorektal karsinomların ise % 85'inde overekprese olduğunu göstermiştir. Bu bağlamda Anti-EGFR antikor tedavisi, bu kaskadın blokajı suretiyle tümörögenezisin

supresyonu amacını taşımaktadır ve metastatik kolorektal karsinomlu hastaların tedavisinde konvansiyonel kemoterapötik ajanlarla kombine edilerek kullanılmaktadır (53, 54). Bu amaçla kullanılan başlıca iki ilaç Cetuximab ve Panitumumab'dır. Antikoru reseptörü bağlanarak serbest reseptör sayısını azaltması aktive edici ligand bağlanmasını engellemekte ve sinyal üretimini bloke etmektedir. Ancak MAPK yolağında aktive edici mutasyon varlığı tedaviyi etkisiz kılmaktadır. Bu grubun en bilinen üyesi KRAS mutasyonlarıdır (55, 56). KRAS mutasyonlarının tüm kolorektal karsinomlar içinde görülme sıklığı % 40'tır. Nokta mutasyonlar olarak prezente olurlar ve en sık ekzon 2'deki kodon 12 ve 13'te daha nadiren ekzon 3'te bulunan kodon 61'de izlenirler. Mutasyonların % 80'i kodon 12'de, % 15'i kodon 13'te, % 1-3'ü kodon 61'te lokalizedir (57, 58, 59). Kodon mutasyonlarının değişik varyantları Çizelge 2.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.1. KRAS mutasyonlarının sıklıkla izlendiği kodonlar ve varyantları.

Kodon 12		Kodon 13		Kodon 61	
GGT>GAT	Gly12Asp	GGC>GAC	Gly13Asp	CAA>CTA	Gln61Leu
GGT>GTT	Gly12Val	GGC>TGC	Gly13Cys	CAA>CAT	Gln61His
GGT>TGT	Gly12Cys	GGC>CGC	Gly13Arg	CAA>CAC	Gln61His
GGT>AGT	Gly12Ser	GGC>AGC	Gly13Ser	CAA>CGA	Gln61Arg
GGT>GCT	Gly12Ala	GGC>GCC	Gly13Ala	CAA>CTA	Gln61Glu
GGT>CGT	Gly12Arg	GGC>GTC	Gly13Val		

Bu kodonlar KRAS proteinin intrinsik GTPaz subunitini kodlayan sekanslardır. Mutant kodonların kodladığı yeni aminoasitler GTPaz'ın moleküler yapısını değiştirerek aktivasyonunun yok olması veya etkisinin zayıflaması şeklinde etki oluştururlar. Mutant KRAS proteinin bir kere aktive olduktan sonra aktif kompleksteki GTP'nin ortamdan uzaklaştırılamaması, dolayısıyla sonlandırılmayan sinyal üretimi nedeniyle EGFR'nin antikorlarla blokajı sağlansa dahi MAPK yolağının neoplazi yönünde ilerlemesi durdurulamamaktadır. Tedaviye uygun hasta seçiminin algoritmasında metastatik kolorektal karsinomlu hastalarda ilk tedavi seçimi Oxaplatin (FOLFOX) veya Irinotecan (FOLFİRİ) bazlı iki anan klasik kemoterapötik ajan

kombinasyonlarıdır. Tedavi rejimine rağmen progresyon görülen hastalar KRAS mutasyon analizine tabi tutulurlar. KRAS mutasyonu var ise sadece diğer alternatif kemoterapötik ajanlarla tedavi rejimine geçilir. KRAS mutasyonu yok ise (wild type) diğer kemoterapötik ajan kombinasyonu ve Anti-EGFR monoklonal antikorları eşzamanlı başlanır (60, 61). Sonuç olarak konvansiyonel kemoterapinin etkili olmadığı ve KRAS mutasyonu olmayan hasta grubu Anti-EGFR tedavisine uygun kabul edilir.

EGFR gen overekspresyonunun % 85 gibi yüksek oranda görülmesi, overekspresyon görülmeyen hasta grubunda da Anti-EGFR antikorlarının kısmen etkili olması ve test başına laboratuvar maliyetinin yüksek olması nedeniyle, tedavi öncesi EGFR overekspresyonun taranması rasyonel kabul edilmemektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kolorektal Karsinom Tanılı Vakaların Seçimi

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 01 Ocak 2001-31 Aralık 2010 tarihleri arasında 10 yıllık sürede kolorektal karsinom nedeniyle opere olup patoloji raporu yazılan hastaların geriye dönük olarak taranarak, kolorektal karsinom tanısı bulunan 529 vaka çalışmaya dâhil edildi. Vakaların seçiminde konsültasyon bloklarından tanı almış olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Bunlar yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, histopatolojik tanı, tümör diferansiyasyon derecesi, tümör evresi, çap, tümör invazyon derinliği, perinöral invazyon, tanı anında eş zamanlı metastatik karaciğer lezyonu, tanı anında eşlik eden adenomatöz lezyon, postoperatif dönemde aldıkları tedaviler ve radyolojik olarak saptanmış uzak organ metastazları gibi özellikleri taranarak, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı danışmanlığında elde edilen veriler SPSS-18 kullanılarak gerekli analizleri yapılmıştır. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanılmıştır.

3.2. KRAS Mutasyon Analizi Yapılmış Olgular

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda Kolorektal karsinom tanısı konmuş ve KRAS mutasyon analizi yapılmış 65 vaka retrospektif olarak taranarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Bu çalışma için hastalara ait tümörlü bloklardan DNA izolasyonu sonrasında PyroMark Q24 sekans ünitesi ile taramaya tabi tutulan örnekler KRAS (kodon 12, 13 ve 61) mutasyonu açısından analiz edilmiş hastalara ait moleküler genetik raporları incelenmiştir.

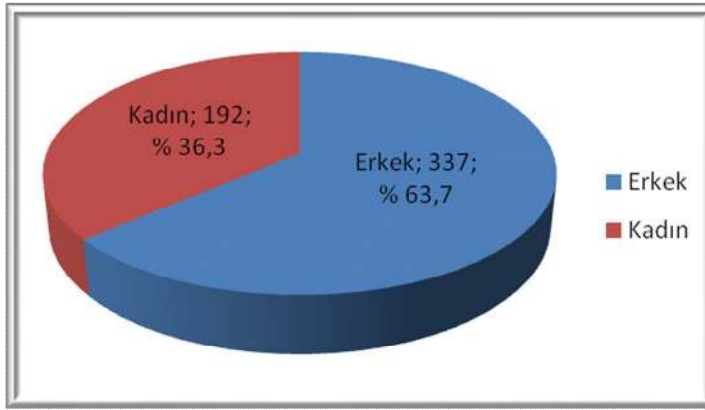
Bu hastalar yaş, cinsiyet, histopatolojik tanı, TNM evresi, tümör çapı, lokalizasyonu, invazyon derinliği, lenf nodu metastazı, uzak organ metastazı, mutasyon durumu gibi özellikleri taranarak, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı danışmanlığında elde edilen veriler SPSS-18 kullanılarak gerekli analizleri yapılmıştır.

4. BULGULAR

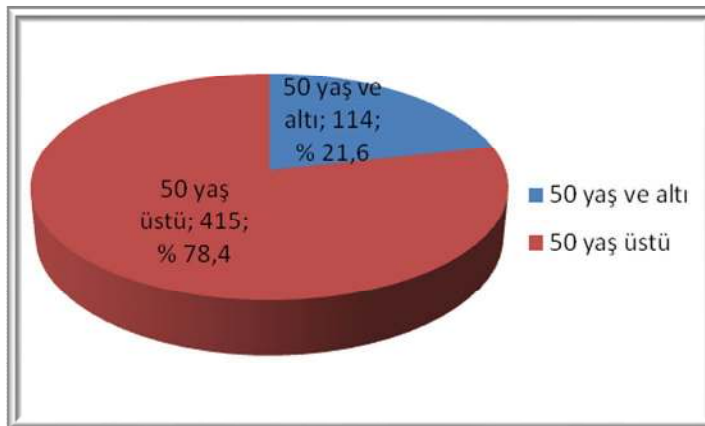
4.1. Hastaların Klinik Özellikleri

Çalışmaya 01 Ocak 2001-31 Aralık 2010 tarihleri arasında 10 yıllık sürede kolorektal karsinom nedeniyle opere olup patoloji raporu yazılan 529 vaka dâhil edilmiştir.

Vakaların 337 (% 63,7)'si erkek, 192 (% 36,3)'si kadındı. Şekil 4.1'de görüldüğü üzere erkeklerin kadınlara oranı 3,5/2'di. Yaş aralığı 14 ile 92 arasında değişmekte ve hastaların yaş ortalaması 62'dir. Hastaların 114 (% 21,6)'ü 50 yaş ve altında tanı alırken, 415 (% 78,4)'i 50 yaşının üzerinde tanı almıştır (Şekil 4.2), (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1. Kolorektal karsinomlu olguların cinsiyet dağılımı.



Şekil 4.2. Kolorektal karsinomlu olguların 50 yaşa göre dağılımı.

Çizelge 4.1. Olguların yaş ve cinsiyet dağılımları

Klinikopatolojik				n= 529
Değişkenler				
Yaş				min: 14 max: 92 ort: 62
Yaş Grupları				
≤ 50				114 (% 21,6)
> 50				415 (% 78,4)
Cinsiyet				
Kadın				192 (% 36,3)
Erkek				337 (% 63,7)

4.2. Histopatolojik Özellikler

Histopatolojik tanıları incelenen 529 hastanın 462'si (% 87,3) Adenokarsinom, 4 (% 0,8)'ü Adenoskuamöz Karsinom, 56 (% 10,6)'sı Müsinöz Adenokarsinom, 2 (% 0,4)'si Malign Melanom, 2 (% 0,4)'si Yassı Epitel Hücreli Karsinom, 1 (% 0,2)'i Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom, 2 (% 0,4)'si Küçük Hücreli Nöroendokrin Karsinom tanısı verilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Tümörlerin histopatolojik özelliklerinin dağılımı

Histopatolojik		n= 529
Değişkenler		
Tümör Çapı	min: 0,5cm max: 15cm	
Lokalizasyon		
Çekum	27 (% 5,1)	
Kolon	324 (% 61,2)	
Rektum	178 (% 33,6)	
Histolojik Tip		
Adenokarsinom	462 (% 87,3)	
Müsinöz Karsinom	56 (% 10,6)	
Adenoskuamöz Karsinom	4 (% 0,8)	
Malign Melanom	2 (% 0,4)	
Skuamöz Hücreli Karsinom	2 (% 0,4)	
Küçük Hücreli Karsinom	2 (% 0,4)	
Büyük Hücreli Karsinom	1 (% 0,2)	
Diferansiyasyon		
İyi	87 (% 16,4)	
Orta	386 (% 73,0)	
Kötü	52 (% 9,8)	
Kayıp Veri	4 (% 0,8)	
Perinöral İnvazyon		
Var	198 (% 37,4)	
Yok	331 (% 62,6)	
Adenomatöz Lezyon		
Tübüler Adenom	31 (% 5,9)	
Tübülovillöz Adenom	28 (% 5,3)	
Villöz Adenom	12 (% 2,3)	
Lezyon Yok	458 (% 86,6)	

324 hastanın tümörü kolonda lokalize iken, 178'i rektumda ve 27'si çekumda lokalizedir (Bkz. Çizelge 4.2).

Adenokarsinom, Adenoskuamöz karsinom, müsinöz karsinom ve yassı epitel hücreli karsinom tanımlı hastaların 386 (% 73)'sı orta derecede diferansiye,

87 (% 16,4)'si iyi derecede diferansiye, 51 (% 9,6)'i kötü derecede diferansiyedir (Bkz. Çizelge 4.2).

Hastaların % 37,4'ünde (198/529) perinöral invazyon mevcuttur; % 62,6'sında (331/529) perinöral invazyon izlenmemiştir (Bkz. Çizelge 4.2).

Tanı anında karaciğere metastazı (senkron karaciğer metastazı) olduğu histopatolojik olarak ispatlanan 49 hasta mevcuttur; ayrıca 1 hastada sürrenal beze, 2 hastada overe metastaz olduğu belirtilmiştir.

Tümör çapı belirlenen 528 hastada izlenen en küçük tümör çapı 0,5'tir, en büyük tümör çapı 15 cm'dir.

Tanı anında primer tümöre eşlik eden adenomatöz lezyonlardan Tübüler Adenom 31 hastada, Tübülovillöz Adenom 28 hastada, Villöz Adenom 12 hastada izlenmiştir. 458 hastada adenomatöz lezyon izlenmemiştir (Bkz. Çizelge 4.2).

Tümör invazyon derinliklerine göre belirlenen TNM klasifikasyonundaki T değerleri incelendiğinde Tis olan 4 hasta, T1 olan 8 hasta, T2 olan 68 hasta, T3 olan 395 hasta ve T4 olan 52 hasta mevcuttur. Vakaların % 84,9'u tanı anında T3 ve T4 olarak rapor edilmiştir (Çizelge 4.3).

Lenf nodu metastazı durumuna göre belirlenen TNM klasifikasyonundaki N değerleri incelendiğinde 245 hasta N0, 141 hasta N1 ve 141 hasta N2 olarak rapor edilmiştir. Vakaların % 46,5'inde lenf nodu metastazı yoktur (Çizelge 4.3).

M değerleri incelendiğinde tanı anında M1 olan 53 (% 10,1) hasta, Mx olan 476 (% 89,9) hasta mevcuttur (Çizelge 4.3).

Hastaların TNM sistemine göre evreleri incelendiğinde; Evre 0 olan 4, Evre 1 olan 61, Evre 2 olan 173, Evre 3 olan 238 ve Evre 4 olan 53 hasta mevcuttur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Olguların TNM verilerinin dağılımı

Histopatolojik		n= 529
Değişkenler		
T		
Tis		4 (% 0,8)
T1		8 (% 1,5)
T2		68 (% 12,9)
T3		395 (% 74,7)
T4		52 (% 9,8)
Kayıp Veri		2 (% 0,4)
N		
N0		245 (% 46,3)
N1		141 (% 26,7)
N2		141 (% 26,7)
Kayıp Veri		2 (% 0,4)
M		
M1		53 (% 10,1)
Mx		476 (% 89,9)
Evre		
Evre 0		4 (% 0,8)
Evre 1		61 (% 11,5)
Evre 2		173 (% 32,7)
Evre 3		238 (% 45,0)
Evre 4		53 (% 10,0)

Postoperatif dönemde radyolojik olarak PET ve BT ile takipleri devam eden 354 hastadan 169’unda uzak organ metastazı veya nüks saptanmamıştır, 51 hastada radyolojik olarak karaciğer metastazı izlenmiştir. 6 hastada akciğer metastazı, 3 hastada beyin metastazı, 9 hastada nüks izlenirken birden fazla organ metastazı izlenen hasta sayısı 53’tür. Takipleri devam eden hastalardan 169’unda radyolojik olarak uzak organ metastazı saptanmamıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Olguların radyolojik ve patolojik metastaz durumlarının dağılımı

Uzak Organ	n= 529
Metastazı	
Takiplerinde Radyolojik Uzak Organ Metastazı / Nüks	
Karaciğer	51 (% 9,7)
Akciğer	6 (% 1,2)
Nüks	9 (%1,8)
Kemik	4 (% 0,8)
İliak Lenf Nodu	3 (% 0,6)
Çölyak Lenf Nodu	1 (% 0,2)
Periton	2 (% 0,4)
Tiroid	1 (% 0,2)
Metastaz Olmayan	169 (% 31,5)
Takip Dışı	55 (% 10,4)
Multipl Organ Metastazı (*)	53 (% 10,1)
Verisi Olmayan	175 (% 33,1)
Tanı Anında Patolojik Metastaz (**)	
Karaciğer (İzole)	49 (% 9,3)
Adrenal (İzole)	1 (% 0,2)
Over (İzole)	2 (% 0,4)

(*) : Karaciğer, akciğer, kemik, adrenal, periton, omentum, iliak lenf nodları.

(**) : n=52

Postoperatif dönemde yoğun bakım ünitesinde 10 hasta ölmüştür, 186 hastaya kemoterapi başlanmıştır, 3 hasta yalnızca radyoterapi almıştır, 16 hasta önce kemoterapi sonra radyoterapi ile tedavi edilmiştir. 11 hastaya ise önce radyoterapi sonrasında kemoterapi uygulanmıştır. 303 hastanın postoperatif dönemde Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Medikal Onkoloji Anabilim Dalı veya Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda tedavi aldıklarına dair bulgu yoktur.

50 yaş ve altında tanı alan hastalar ile 50 yaş üzerinde tanı alan hastaların TNM klasifikasyonuna göre T ve N dereceleri, cinsiyet, evreleri ve tanı anında karaciğer metastaz varlığı açısından aralarında anlamlı fark bulunmamıştır

Metastatik lenf nodu olmayan (N0) 245 hastadan 192 (% 78,4)'si 50 yaşının üzerinde izlenirken lenf nodu metastazı olan (N1 ve N2) 282 hastanın 221 (% 78,4)'i 50 yaşının üzerindedir.

Ayrıca Evre 0, Evre 1, Evre 2 olanlar erken evre grubu olarak; Evre 3 ve Evre 4 olanlar ise geç evre olarak kabul edilip 2 farklı grup için perinöral invazyon durumları incelendiğinde perinöral invazyon olan 198 hastadan 146 (% 73,7)'si geç evrede, 52 (% 26,3)'si erken evrededir.

Bu hastalar içinde tümör penetrasyonuna göre Tis, T1 ve T2 olanlar (n=80) ile T3 ve T4 (n=447) olanlar arasında perinöral invazyon durumu incelendiğinde anlamlı korelasyon izlenmemiştir. Bu gruplarda perinöral invazyon olanlar sırasıyla ilk grup için 5/80, ikinci grup için 192/447 'dir.

Cinsiyet durumlarına göre evrelere bakıldığında 192 kadın hastanın 108 (% 56,2)'i geç evrede (evre 3 ve 4) izlenirken bu oran erkek hastalarda 183/337 (% 54,3)'dir.

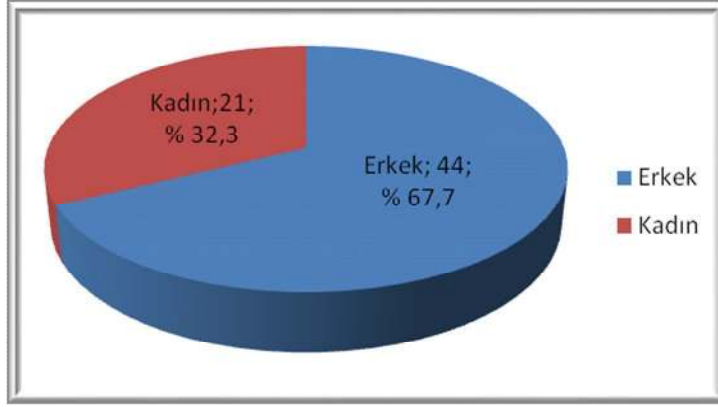
Tanı anında karaciğer metastaz varlığı bulunan 49 hastanın sırasıyla kadın ve erkek oranları 24/49 ve 25/49 olup cinsiyet farkı gözlenmemiştir.

Genel Cerrahi Kliniği tarafından opere edilen hastaların patoloji istem formlarında spesmen türü ya da tümör lokalizasyon yerleri net olarak belirtilmediğinden çalışmamızda yer alan hastaların tümör lokalizasyonu "çekum", "kolon" ve "rektum" olarak sınıflandırılabilmiştir. Cerrahi prosedürler yönünden yeterli veri bulunmadığından bu yönden kıyaslanma yapılamamıştır. Nitekim kadın ve erkek hastaların tümör lokalizasyonu en sık "kolon" olarak bildirilmiştir. Her iki cinsiyette de anlamlı fark bulunmamıştır.

4.3. KRAS Mutasyon Durumu İncelenen Hastaların Özellikleri

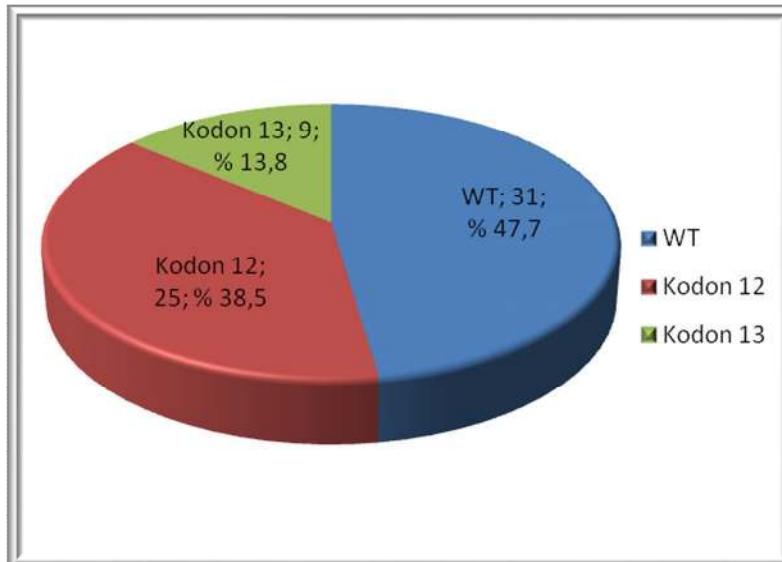
Retrospektif incelememizde Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda son 3 yıldır yeni uygulanmaya başlanmış olan KRAS mutasyon analizi yapılmış 65 olgudan 21 (% 32,3) hasta kadın, 44 (% 67,7) hasta erkektir (Şekil 4.3) . Mutant hastaların 24'ü erkek, 10'u kadın cinsiyettedir. Erkek

kadın oranı 2,4'tür. Mutasyon analizine bakılan en genç hasta 34 yaşında en yaşlı hasta 79 yaşındadır.



Şekil 4.3. KRAS mutasyon analizi yapılan hastaların cinsiyet dağılımı.

31 (% 47,7) hastada KRAS mutasyonu izlenmemiştir (wild type). Bu hastaların yaş ortalaması 52'dir. Mutasyon saptanan 34 (% 52,3) hastadan 25'i kodon 12'de, 9'u kodon 13'te mutasyona sahiptir. Kodon 61'de mutasyon saptanmamıştır (Şekil 4.4). Mutant hasta grubunda yaş ortalaması 61 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.4. KRAS mutasyon analizi yapılan hastaların mutasyon dağılımı.

Çizelge 4.5. Farklı klinikopatolojik parametrelerle KRAS gen mutasyonunun ilişkisi.

Klinikopatolojik Değişkenler	WT KRAS N (%)	Mut KRAS N (%)
Cinsiyet		
Kadın	11 (35,5)	10 (29,4)
Erkek	20 (64,5)	24 (70,6)
Yaş	31 (47,6)	34(52,4)
Diferansiyasyon		
İyi	3 (10,7)	6 (21,4)
Orta	22 (78,6)	19 (67,9)
Kötü	3 (10,7)	3 (10,7)
Tümör Penetrasyonu		
T1	0	0
T2	1 (3,6)	0
T3	25 (89,3)	27 (100)
T4	2 (7,1)	0
Lenf Nodu (N)		
N0	6 (21,4)	8 (29,6)
N1	3 (10,7)	4 (14,8)
N2	19 (67,9)	15 (55,6)

Kodon 12’de 5 tip mutasyon saptanmıştır. Bunlar; G12D (15 olgu, % 23,1), G12V (6 olgu, % 9,2), G12A (1 olgu, % 1,5), G12S (1 olgu, % 1,5), G12V içeren (2 olgu, % 3) şeklindedir.

Kodon 13’te yalnızca tek tip mutasyon saptanmış olup G13D (9 olgu, % 13,8)’dir.

KRAS mutasyon analizi yapılmış olan 65 olgunun 7’sinde tümör lokalizasyon bilgisine ulaşılammıştır. Verileri mevcut olan 58 olgunun 8 (% 12,3)’i çekumda, 24 (% 36,9)’ü kolonda, 26 (% 40)’sı rektumda tümör nedeniyle operedir.

Mutant tümöre sahip 31 olguda histopatolojik alt tipi Adenokarsinom olan 26 (% 83,9), Müsinöz karsinom olan 5 (% 16,1) olgu mevcuttur. Mutasyon izlenmeyen 30 olgunun 24 (% 80)’i Adenokarsinom ve 6 (% 20)’ sı ise Müsinöz

karsinom morfolojisindedir ve Mutasyon durumu ile histopatolojik alt tipi anlamlı korelasyon göstermektedir.

Verileri mevcut olan 55 hasta incelendiğinde 28 hastada mutasyon saptanmamıştır ve bu hastaların TNM klasifikasyonuna göre tümör penetrasyonları sırasıyla T2 olan 1 (% 3,6), T3 olan 25 (% 89,3), T4 olan 2 (% 7,1) olgu mevcuttur. Mutant olan 27 olgunun tamamı T3'dür.

Mutasyon izlenmeyen (wild-tip) 28 hastanın 6 (% 21,4)'sında lenf nodu metastazı yoktur. 22 hastada (% 78,6) lenf nodu metastazı (N1-N2) vardır. Mutant olan N0 olan hasta sayısı 8 (% 29,6) ve N1-N2 olan hasta sayısı 19 (% 70,4)'tür.

Evrelerine göre inceleme yapılabilen 59 hastada erken evre (Evre 1 ve 2) ile ileri evrede (Evre 3 ve 4) izlenen mutasyon analizine bakıldığında mutant olan 30 olgunun 25 (% 83,3)'i ileri evrede izlenirken, 5 olgu erken evrede tanı almıştır. Mutasyon izlenmeyen 29 olgunun 23 (% 79,3)'ü ileri evrede, 6 (% 20,7)'sı erken evrededir (Bkz. 4.5).

Karaciğer ve diğer uzak organlara (akciğer, kemik, beyin, sürrenal, over tiroid ve iliak lenf nodları ve periton) metastaz durumlarına bakıldığı zaman 58 hastanın verilerine ulaşıp inceleme yapılmıştır. Mutasyon izlenmeyen 29 olgunun % 75,9'unda karaciğere metastaz izlenmiştir. Mutasyon izlenen diğer 29 olguda ise bu oran % 58,6'dır.

Perinöral invazyon durumları incelendiğinde wild-tip 28 olgunun 21 (%75)'inde perinöral invazyon vardır, mutant olan 27 olgunun ise 16 (% 59,3)'sında invazyon görülmüştür.

Tanı anında patolojik olarak karaciğere metastaz olduğu ispatlanan 20 olgunun 13'ünde KRAS mutasyonu yoktur; 7 hastada ise mutasyon saptanmıştır.

Tek tek istatistiksel olarak ele alındığında KRAS mutasyonu ile histolojik tip, yaş, cinsiyet, tümör penetrasyonu, lenf nodu metastazı, evre, perinöral invazyon ve karaciğer metastazı arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır ($p > 0,05$).

5. TARTIŞMA

Kolorektal karsinomu, gastrointestinal sistemin en sık rastlanan kanseridir. Bütün dünyada önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olup, dünya genelinde yıllık 1.000.000'dan fazla kişide hastalığın geliştiği tahmin edilmektedir. KRAS bir onkogen olup aynı zamanda EGFR'nin indüklenen RAS-MAPK yolağının anahtar üyesidir (62, 63). Kolorektal karsinom gelişiminin erken basamağında yer alan bir mutasyondur ve bu tümörlerin %30 ile %40'ında saptanmaktadır (57). Kemoterapiye dirençli metastatik kolorektal karsinomlu hastalarda Anti-EGFR monoklonal antikorları alternatif tedavi seçeneği olup diğer kemoterapötik ajanlarla kombine edilerek kullanılmaktadır (64). Ancak MAPK yolağındaki moleküler duraklarda var olan aktive edici mutasyonlar antikor tedavisinin başarısızlığına neden olur. Bu moleküler duraklar içerisinde en sık mutasyon KRAS geninde izlenmektedir. Bu anlamda antikor tedavisine uygun hasta seçimine yönelik olarak, tümörlü doku bloklarından uygun tekniklerle mutasyon taraması rutin uygulama haline gelmiştir. En duyarlı tarama yöntemlerinden birisi sekans analizidir.

Genç kolorektal karsinomlu hasta tanımlamasında baz alınacak yaş halen tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda bu sınır Amsterdam Kriterleri'ne göre incelendiğinde altta yatan otozomal dominant geçişli Lynch Sendromu gibi predispozan hastalık varlığında 50 yaş iken bazı çalışmalarda 30 yaş ve altıdır (67). Genç popülasyon tanımlaması henüz standart olmadığından farklı çalışmalar arasında da anlamlı kıyaslama yapmak zorlaşmıştır. Genç kolorektal karsinomlu hastalar; karsinogenez için risk faktörleri spektrumu ele alındığında heterojen bir gruptur.

Çalışmamızda 50 yaş altında ve üstünde tanı alıp cerrahi rezeksiyon yapılmış hasta gruplarını incelediğimizde 50 yaş ve üzerinde tanı alan hastalar %74,5 olarak bulunmuştur. Singapur'da yapılan bir çalışmada cerrahi rezeksiyon uygulanmış sporadik kolorektal karsinomlu 2426 olgunun % 86,4'ü 50 yaşının üzerinde bulunmuştur (68). Bizim çalışmamızdaki 50 yaş üzerindeki kolorektal karsinomlu olguların yüzdesi incelen vaka sayısının azlığı nedeniyle daha düşük bulunmuş olabilir. Yine bu Singapur'daki çalışmada tümör lokalizasyonları

incelendiğinde kolon- rektum yerleşimli tümörlerin yüzdesi sırasıyla %65,5 ve %34,5 olarak bulunmuştur (68). Bizim çalışmamızda kolon-rektum yüzdeleri birbirine benzer oranlarda olup %61,2 ve % 31,6'dır (Bkz Çizelge 4.2).

Tümör histolojik dereceleri incelendiğinde ise iyi-ort-kötü diferansiye tümör yüzdeleri sırasıyla % 10,9, % 81,1 ve % 8 olarak verilmiştir (68). Bizim çalışmamızda bu oranlar sırasıyla % 16,4, % 73 ve % 9,8'dir (Bkz Çizelge 4.2).

Yine Singapur'daki çalışmanın T evreleri incelendiğinde T1, T2, T3, T4 olana hasta oranları sırasıyla % 4,9, % 12,2, % 61,6, % 21,3 olarak verilmiştir; bu oranlar bizim çalışmamızda benzer yüzdelere sahiptir (Bkz Çizelge 4.3).

Yine benzer olarak TNM evreleri ve perinöral invazyon oranları yakın yüzdelerde bulunmuştur (Bkz Çizelge 4.3).

İncelenen 529 kolorektal karsinom tanılı olguların 238 (% 45)'i erken evrede opere olmuşlardır. 291(% 55) hasta ise ileri evrede opere olmuştur. Bu hastalarda perinöral invazyon durumları incelendiğinde evre 3 ve 4 olan hasta grubunda daha fazla perinöral invazyon izlendiği; evre 0, evre 1 ve evre 2 olan hasta grubunda ise daha az oranda perinöral invazyon görülmüştür. Erken evre ve ileri evre hasta grupları arasında perinöral invazyon açısından anlamlı fark bulunamıştır.

Kolorektal bölgede skuamöz hücreli karsinomu çok nadir olarak görülmektedir. Nitekim rektumda yalnızca 2 kadın hastada skuamöz hücreli karsinom tanısı rapor edilmiştir. Bu 2 hasta evre 1 ve 2'de tanı almışlardır. 4 hastada adenoskuamöz karsinom izlenmiştir ve yalnızca 1 hastada tümör kolonda olup tanı anında hastada senkron karaciğer metastazı görülmüştür. Literatüre bakıldığında kolonda adenoskuamöz ve skuamöz hücreli karsinom çok az olguyla sınırlıdır (78, 79). Skuamöz hücreli karsinomun histogenezi açık değildir; fakat kök hücrelerin skuamöz hücreli karsinoma diferansiyasyonu ile geliştiği düşünülmektedir (79). Tadashi Terada'nın Japonya'da yapmış olduğu tek merkezli çalışmada 1464 rektum spesmeninde yalnızca 1 vakada skuamöz hücreli karsinom tespit etmiştir (80).

Kolorektal adenomların malign transformasyona uğradığı iyi bilinmektedir. Kolorektal karsinogenezde iki yolağın (adenom-karsinom sekansı ve de novo karsinogenez) üzerinde durulmaktadır (13, 14, 15). Çok basamaklı

karsinogenezde KRAS gibi bir onkogen mutasyonu ve p53 gibi tümör süpresör gen kayıpları yer almaktadır. Kolorektal adenomlar prekanseröz lezyonlar olmakla birlikte çalışmamızda eşlik eden en sık lezyon tübüler adenomdur. Tübülovillöz adenom daha az oranda izlenmiştir ve en az sıklıkta eşlik eden lezyon villöz adenomdur. WHO' a göre en sık malign transformasyon villöz adenomda, daha az sıklıkta tübülovillöz adenom ve tübüler adenomda gelişmektedir (2).

Kolorektal bölgede nöroendokrin tümörler izlenebilmektedir (36). Çalışmamızda yüksek dereceli nöroendokrin karsinom tanılı 3 hasta mevcuttur ve hepsi kolonda tespit edilmiştir. Bu olguların birinde senkron karaciğer metastazı da izlenmiştir. Literatüre çok az sayıda nöroendokrin karsinom tanılı hasta sunulmuştur (81, 82).

Yapılan RASCAL 1 ve RASCAL 2 çalışmalarında KRAS mutasyonlu tümörlerde morfolojik özellikler, prognostik faktörler ve moleküler genetik detaylar belirtilmiştir (57, 65). Yaptıkları çalışmada iyi ve orta derecede diferansiye tümörlerde kötü diferansiye tümörlere nazaran daha fazla mutasyon saptamışlar. Tümör lokalizasyonu, evre, vasküler invazyon ve müsinöz özelliklerle mutasyon durumu arasında korelasyon saptanmadığını bildirmişler (57). Çalışmamızda evre, tümör lokalizasyonu ve müsinöz özelliklerle anlamlı korelasyon izlenmedi; fakat bu durum az sayıda mutasyon analizi yapılmış vakaların sınırlı bilgileriyle elde edilmesinden kaynaklanmış olabilir.

Sporadik kolorektal karsinomlu olgularda KRAS mutasyon görülme oranları farklı etnik gruplar üzerinde yapılan analizlerde örneğin; İsveç (69), Çin (70), Norveç (71) , İtalya (72), Irak (73) gibi ülkelerde % 20-50 arasında değişmektedir. Bizim çalışmamızda KRAS mutasyon görülme sıklığı % 52,3 olarak bulunmuştur. Bu geniş dağılım yüzdeleri mutasyon analizinin yapıldığı metodların özgüllüğü ve duyarlılığının yanı sıra seçili hastaların küçük çaptaki serileri kapsaması ve çevresel faktörlere bağlı olabilir.

Tümör lokalizasyonlarına göre mutasyon durumları incelendiğinde Çin'de Z Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mutant olguların %25'i rektum kaynaklı, %75'i de kolon kaynaklı tümörlerdir (70). İtalya'da sporadik kolorektal karsinomlu olguların mutant olanları % 50 oranında kolonda ve % 50 oranında

rektumda izlenmiştir (72). Bizim çalışmamızda mutasyon tespit edilen olguların % 40'ı rektum kaynaklı , % 36,9'u kolon ve % 12,3'ü ise çekum kaynaklıdır.

Tümör diferansiyasyon dereceleri ve senkron karaciğer metastazlı olguların incelenmiş olduğu Z Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada KRAS mutasyonu; karaciğer metastazı ve kötü diferansiyasyonla anlamlı korelasyon göstermiştir (70). Bizim çalışmamızda ise anlamlı korelasyon saptanmamıştır ($p > 0,005$).

Literatürde KRAS mutasyon durumu ile klinikopatolojik verilerin korelasyonunu inceleyen çok sayıda çalışma mevcut olup bizim çalışmamızda da benzer şekliyle yaş, cinsiyet ve tümör lokalizasyonu yönünden korelasyon saptanmamıştır (57, 74, 75).

Al-Allawi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada Irak'taki sporadik kolorektal karsinomlu olguların KRAS mutasyon sıklığı tümör diferansiyasyonu daha iyi olan tümörlerde kötü diferansiye tümörlere nazaran daha çoktur (73). Bu durum bazı çalışmalar ve bizim çalışmamızla benzer bir bulgudur (76, 77).

Kolorektal karsinomlu hastaların, kanserli dokudaki KRAS mutasyonun varlığı hastalığın tedavisine yön vermektedir ve bu hastaların birçoğunda KRAS'ın "wild type" olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple kolorektal karsinomlu hastalara standart olarak verilen Anti-EGFR tedavisinin RAS mutasyon durumunun önceden tespit edilerek verilmesi önem kazanmıştır. Çünkü KRAS genindeki mutasyonlar sinyal kaskadında downstreamde sinyal yollarını kendiliğinden aktive etmektedir. Dolayısıyla KRAS mutasyonu olan bireylerin hücre yüzeyinde yer alan EGFR reseptörlerinin blokajı için Anti-EGFR tedavisinden yanıt alamayacaklardır.

Sonuç olarak bu çalışma ile Antalya ilini yansıtan sınırlı sayıdaki kolorektal karsinom tanılı olguların yanı sıra merkezimizde mutasyon analizi yapılmış olguların demografik ve klinikopatolojik verilerini retrospektif olarak incelemiş olduk. Yapılan bu limitli çalışma bu görüş için bir ön izlenim çalışması niteliğini taşıyabilir. Bu sebeple ileride yapılacak çok merkezli ve daha fazla hasta sayısı içeren kanıt düzeyi yüksek çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmadaki elde edilen bulgular literatürdeki bilgiler ile birlikte değerlendirildiğinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

- Retrospektif olarak patoloji raporları bilgisayar ortamında incelenen 529 kolorektal karsinom olgusunda minimum tanı yaşı 14 maksimum tanı yaşı 92 olup ortalama yaş 62'dir.
- 337'si erkek hasta 192'si kadın hastadır. Bu hastaların 415'i 50 yaşının üzerindeyken tanı almıştır.
- 462'si (% 87,3) Adenokarsinom, 4 (% 0,8)'ü Adenoskuamöz Karsinom, 56 (% 10,6)'sı Müsinöz Adenokarsinom, 2 (% 0,4)'si Malign Melanom, 2 (% 0,4)'si Yassı Epitel Hücreli Karsinom, 1 (% 0,2)'i Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom, 2 (% 0,4)'si Küçük Hücreli Nöroendokrin Karsinom tanısı verilmiştir.
- 324 hastanın tümörü kolonda lokalize iken, 178'i rektumda ve 27'si çekumda lokalizedir.
- Hastaların 386 (% 73)'sı orta derecede diferansiye, 87 (% 16,4)'si iyi derecede diferansiye, 51 (% 9,6)'i kötü derecede diferansiyedir.
- Hastaların % 37,4'ünde (198/529) perinöral invazyon mevcuttur; % 62,6'sında (331/529) perinöral invazyon izlenmemiştir.
- Tanı anında karaciğere metastazı (senkron karaciğer metastazı) olduğu histopatolojik olarak ispatlanan 49 hasta mevcuttur; ayrıca 1 hastada sürrenal beze, 2 hastada overe metastaz olduğu belirtilmiştir.
- TNM klasifikasyonundaki T değerleri incelendiğinde Tis olan 4 hasta, T1 olan 8 hasta, T2 olan 68 hasta, T3 olan 395 hasta ve T4 olan 52 hasta mevcuttur. Vakaların % 84,9'u tanı anında T3 ve T4 olarak rapor edilmiştir.
- TNM klasifikasyonundaki N değerleri incelendiğinde 245 hasta N0, 141 hasta N1 ve 141 hasta N2 olarak rapor edilmiştir. Vakaların % 46,5'inde lenf nodu metastazı yoktur.

- M değerleri incelendiğinde tanı anında M1 olan 53 (% 10,1) hasta, Mx olan 476 (% 89,9) hasta mevcuttur.
- Olguların 238 (% 45)'i erken evrede opere olmuşlardır. 291(% 55) hasta ise ileri evrede opere olmuştur. 50 yaş ve altında tanı alan hastalar ile 50 yaş üzerinde tanı alan hastaların TNM klasifikasyonuna göre T ve N dereceleri, cinsiyet, evreleri ve tanı anında karaciğer metastaz varlığı açısından aralarında anlamlı fark bulunmamıştır.
- KRAS mutasyon analizi yapılmış olan 65 olgu retrospektif olarak incelendiğinde 31 (% 47,7) hastada KRAS mutasyonu izlenmemiştir (wild type). Bu hastaların yaş ortalaması 52'dir. Mutasyon saptanan 34 (% 52,3) hastadan 25'i kodon 12'de, 9'u kodon 13'te mutasyona sahiptir. Kodon 61'de mutasyon saptanmamıştır.
- Mutant hasta grubunda yaş ortalaması 61 olarak hesaplanmıştır.
- Kodon 12'de 5 tip mutasyon saptanmıştır. Bunlar; G12D (15 olgu, % 23,1), G12V (6 olgu, % 9,2), G12A (1 olgu, % 1,5), G12S (1 olgu, % 1,5), G12V içeren (2 olgu, % 3) şeklindedir.
- Kodon 13'te yalnızca tek tip mutasyon saptanmış olup G13D (9 olgu, % 13,8)'dir.
- Mutant tümöre sahip 31 olguda histopatolojik alt tipi Adenokarsinom olan 26 (% 83,9), Müsinöz karsinom olan 5 (% 16,1) olgu mevcuttur. Mutasyon izlenmeyen 30 olgunun 24 (% 80)'i Adenokarsinom ve 6 (% 20)' sı ise Müsinöz karsinom morfolojisindedir ve Mutasyon durumu ile histopatolojik alt tipi anlamlı korelasyon göstermektedir.
- Tanı anında patolojik olarak karaciğere metastaz olduğu ispatlanan 20 olgunun 13'ünde KRAS mutasyonu yoktur; 7 hastada ise mutasyon saptanmıştır. Tek tek istatistiksel olarak ele alındığında KRAS mutasyonu ile histolojik tip, yaş, cinsiyet, tümör penetrasyonu, lenf nodu metastazı, evre, perinöral invazyon ve karaciğer metastazı arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır ($p > 0,05$).

7. ÖZET

2001-2010 YILLARI ARASINDA KOLOREKTAL KARSİNOM TANILI OLGULARIN RETROSPEKTİF İNCELENMESİ VE KRAS MUTASYONUNUN HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ

Kolorektal karsinomu, gastrointestinal sistemin en sık rastlanan kanseridir. Bütün dünyada önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olup, dünya genelinde yıllık 1.000.000'dan fazla kişide hastalığın geliştiği tahmin edilmektedir.

KRAS bir onkogen olup aynı zamanda EGFR'nin indüklenen RAS-MAPK yolağının anahtar üyesidir. Kolorektal karsinom gelişiminin erken basamağında yer alan bir mutasyondur ve bu tümörlerin %30 ile %40'ında saptanmaktadır. Kemoterapiye dirençli metastatik kolorektal karsinomlu hastalarda Anti-EGFR monoklonal antikorları alternatif tedavi seçeneği olup diğer kemoterapötik ajanlarla kombine edilerek kullanılmaktadır.

Retrospektif olarak incelemiş olduğumuz kolorektal karsinomlu olgularda 50 yaş ve üzerinde tanı almış hastalarda tümör histolojik alt tipi, tümör lokalizasyonu, tümör penetrasyon derinliği (T) , lenf nodu metastazı (N), uzak metastaz varlığı, senkron karaciğer metastazı, perinöral invazyon gibi parametrelerde anlamlı korelasyon bulunmamıştır.

KRAS analizi yapılmış sınırlı sayıda örneklemde benzer parametreler bakılarak MUTANT olgular ile NEGATİF olgular kıyaslanmış olup klinikopatolojik parametrelerin hiçbirinde anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Klinik morfolojik ve immünohistokimyasal bulgular tedavi algoritmasında yer alan yeni jenerasyon antikor tedavilerinde tam olarak etkin sonuç alınmasında yeterli patolojik verileri sağlamamaktadır. Bu yüzden moleküler genetik çalışmalar ileri evrede ve metastatik kolorektal karsinomlu olguların tedavi şansını ve sağkalımı artırmak adına önem kazanmıştır.

Nitekim bu bilgiler ışığında hangi hasta popülasyonunun anti-EGFR tedavisinden yarar sağlayacağı mutasyon analizinin önceden yapılmış olmasına bağlıdır. Böylece hastalar sağkalım şanslarını moleküler genetik çalışmaların daha geniş popülasyonlarda yapılacak olan çalışmalar ışığında arttırmış olacaklardır.

Anahtar kelimeler: Kolorektal karsinom, anti-EGFR monoklonal antikor, KRAS mutasyonu.

8. ABSTARCT

THE RETROSPECTIVE ANALYSIS OF COLORECTAL CARCINOMA PATIENTS DIAGNOSED IN 2001-2010 AND RELATIONSHIPS BETWEEN KRAS MUTATION AND HISTOPATHOLOGICAL PARAMETERS

Colorectal carcinoma is the common cancer of the gastrointestinal tract. In both men and women, exculiding skin cancers colorectal cancer is the third most commonly diagnosed in US (1). According to the World Health Organization 2008 data, there are 1,23 million new cases of colorectal cancer each year around the world (2).

KRAS is an oncogen and also a key member of EGFR which is induced by RAS-MAPK pathway. This mutation in the early stage of the develepment of colorectal carcinoma was detected %30-%40 of these tumors. The EGFR monoclonal antibodies are alternative drugs for patients with metastatic colorectal carcinoma who had a resistance to chemotherapy and can be used in combination with other chemotherapeutic drugs.

In this study we have examined the colorectal carcinoma patients respectively who were diagnosed in Mediterranean University, Patology Depertmant. Over 50 years old age with colorectal carcinoma, there were nosignificantly correlations between the parameters like tumor histological subtype, tumor location, tumor penetration depth (T), lymph node metastasis (N), distant metastases, synchronous liver metastasis and perineural invasion.

We also detected KRAS gene mutations with colorectal carcinoma via using PCR-based direct sequencing to investigate the realationship between th clinicopathological characteristics. KRAS mutation has no significant correlation with patient's age, tumor site, degree of differantiation, depth of invasion, TNM stages, musinous subtype, synchronous liver metastasis and perineural invasion.

Clinical, morphological and immunohistochemical findings provide sufficient pathologic data for taking fully effective results at the new generation of antibody therapy in the treatment algorithm.

Therefore, molecular genetic studies in patients with advanced stage and metastatic colorectal carcinoma has gained importance in order to increase the chances of healing and survival. Indeed, which the patient population to be benefit from treatment with anti-EGFR depends on being pre-made KRAS mutation analysis. Thus, their chances of survival will be increased with the molecular genetic studies in larger series.

Key words: Colorectal carcinoma, anti-EGFR monoclonal antibody, KRAS mutations.

8. KAYNAKLAR

1. <http://www.cancer.org/cancer/colonandrectumcancer/detailedguide/colorectal-cancerkey-statistics> (2013).
2. Boyle P, Lewin B (eds). World Cancer Report IARC: Lyon, France (2008).
3. Spano JP, Fagard R, Soria JC ve Ark. Epidermal growth factor receptor signaling in colorectal cancer: preclinical data and therapeutic perspectives. *Ann Oncol* 2005;16:189-94.
4. Bardelli A, Siena S. Molecular mechanisms of resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28:1254-61.
5. Van Cutsem E, Siena S, Humblet Y, Canon JL, Maurel J, Bajetta E, Neyns B, Kotasek D, Santoro A, Scheithauer W, Spadafora S, Amado RG, Hogan N, Peeters M. Open-label phase II trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:1658-64.
6. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use May 2008 Plenary Meeting monthly report. 2008.
7. Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, Hamilton SR, Hammond EH, Hayes DF, McAllister PK, Morton RF, Schilsky RL. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy. *J Clin Oncol* 2009;27:2091-6.
8. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology: Colon Cancer V.2.2011.
9. Kuşakçıoğlu Ö. Kolorektal Kanser Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2003;1-27.
10. Erarslan E, Türkay C. Kolorektal Kanser Etyolojisi ve Predispozan Faktörler. *Güncel Gastroenteroloji.* 2007;11:19-26.
11. Gönen Ö. Kolorektal Kanser Epidemiyolojisi, Kolorektal Özel Sayısı. *Türkiye Klinikleri Journal of Surgery.* 2004;9:57-65.
12. Majerus E, Birnbaum E, Picus J. Colorectal Malignancies. *The Washington Manual of Oncology.* Philadelphia: Lippincott WW; 2002.p.191-202.

13. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins ve Cotran (Çeviri: S. Göksel). Hastalığın Patolojik Temeli, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri. 2009;864-8.
14. Grau MV, Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Beach ML. Vitamin D, calcium supplementation and colorectal adenomas; results of a randomized trial. J Natl Cancer Inst. 2003;95(23):1765-71.
15. Kearney J, Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A, Stampfer MJ, Colditz GA et al. Calcium, vitamin D and dairy foods and the occurrence of colon cancer in men. Am J Epidemiology. 1996;143(9):907-17.
16. Garcia Rodriguez LA, Huerta-Alvarez C. Reduced incidence of colorectal adenoma among long-term users of nonsteroidal antiinflammatory drugs: a pooled analysis of published studies and a new population-based study. Epidemiology. 2000;11(4):376-81.
17. Otake S, Takeda H, Suzuki Y, Fukui T, Watanabe S, Ishihama K et al. Association of visceral fat accumulation and plazma adiponectin with colorectal adenoma: Evidence for Participation of Insulin Rezistance. Clin Cancer Res. 2005;11:3642-6.
18. Skibber JM, Minsky BD, Hoff PM. Cancer of the colon. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Eds.). Cancer, Principles and Practice of Oncology. 6th ed. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins; 2001.p.1216-71.
19. Gillen CD, Andrew HA, Prior P, Allan RN. Crohn's Disease and colorectal cancer. Gut 1994;35(5):651-5.
20. Winawer SJ, Zauber AG, Gerdes H, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Stenberg SS et al. Risk of colorectal cancer in the families of patient with adenomatous polyp. National Polyp Study Workgroup. N Engl J Med. 1996;334(20):1339-40.
21. Rutsgi AK. The genetics of hereditary colon cancer. Genes Dev 2007;21(20):2525-38.
22. Knudson AG. Two genetic hits (more or less) to cancer. Nav Rev Cancer. 2001;1:57.
23. Türkçapar N, Özden A. Tümör Markırları ve Klinik Önemi. Güncel Gastroenteroloji. 2005;9(4):271-81.
24. Akarsu M, Şimşek İ. Kolorektal Kanser İçin Tarama, Kolorektal Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri Journal of Surgery 2004;9:28-35.
25. Duffy MJ. Carcinoembriyonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful Clin Chem. 2001;624-30.

26. Walsh JM, Terdiman JP. Colorectal cancer screening: scientific review. JAMA 2003;289(10):1288-96
27. Pignone M, Rich M, Teutsch SM, Berg AO, Lohr KN. Screening for colorectal cancer in adults at average risk: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task force. Ann Intern Med. 2002;137(2):132-41
28. Christine A. Iacobuzio-D, Elizabeth M. Epithelial neoplasms of the colorectum. In: Gastrointestinal and Liver Pathology. Churchill Livingstone Elsevier. 2005;367-94.
29. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RF, Theise N. World Health Organisation of Tumors of the Digestive System 4th Edition Lyon. 2010;135-46.
30. Shin S, Tadahiko M, Naoyuki U, Noriaki F, Hidehiko Ando, Tetsuichiro M. Characteristics in primary signet-ring cell carcinoma of the colorectum, from clinicopathological observations. Jpn J Clin Oncol. 1998;28:202-6.
31. Bittorf B, Merkel S, Matzel KE, Wein A, Dimler A, Hohenberger W. Primary signet-ring cell carcinoma of the colorectum. Langerbecks Arch Surg. 2004;389:178-83.
32. Terzi C, Ünek T. Kolon Kanserinde Cerrahi Tedavi. Kolorektal Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri Journal of Surgery. 2004;9:71-80.
33. Martenson JA, Willett CG, Sargent DJ, Mailliard JA, Donohue JH, Gunderson LL et al. Phase III study of adjuvant chemotherapy and radiation therapy compared with chemotherapy alone in the surgical adjuvant treatment of colon cancer: results of intergroup protocol 0130. J Clin Oncol 2004;22(16):3277-83.
34. Aydın A, Topuz E, Özmen V, Şakar B, Dinçer M. Gastrointestinal Sistem Tümörleri. Aydın A, Topuz E (Editörler). Onkoloji El Kitabı. İstanbul: Turgut Yayıncılık; 2006.s.199-267.
35. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR et al. Prognostic factors in colorectal cancer. Arch Pathol Lab Med. 2000;124:979-94.
36. Rosai J. Gastrointestinal tract. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, Volume 1. 9th ed. Mosby. 2004;776-855.
37. Watson NF, Madjd Z, Scrimgeour D, Spendlove I, Ellis I, Scholefield J, Durrant LG. Evidence that the p53 negative/Bcl-2 positive phenotype is an independent indicator of good prognosis in colorectal cancer: A tissue microarray study of 460 patients. World J Surg Oncol. 2005;3:47.

38. Hiltunen MO, Alhonen L, Koistinaho J, Myöhanen S, Paakkönen M, Marin S. Hypermethylation of the APC (adenomatous polyposis coli) gene promoter region in human colorectal carcinoma. *Int J Cancer*. 1997;70:644-8.
39. Etseller M, Sparks A, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinad MA. Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer. *Cancer Res*. 2000;60:4366-71.
40. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 1998;58:5248-57.
41. Davies H, Bignell GR, Cox C et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002;417:949-54.
42. Liu B, Parsons R, Papadopoulos N, Nicolaides NC, Lynch HT, Watson P, Jass JR, Dunlop M, Wyllie A, Peltomaki P, de la CA, Hamilton SR, Vogelstein B, Kinzler KW. Analysis of mismatch repair genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer patients. *Nat Med* 2. 1996;169-74.
43. Niihori T, Aoki Y, Narumi Y, et al. "Germline KRAS and BRAF mutations in cardio-facio-cutaneous syndrome". *Nat. Genet*. 2006;38(3):294-6.
44. Burmer GC, Loeb LA. "Mutations in the KRAS2 oncogene during progressive stages of human colon carcinoma". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1989;86(7):2403-7.
45. Tam IY, Chung LP, Suen WS et al. "Distinct epidermal growth factor receptor and KRAS mutation patterns in non-small cell lung cancer patients with different tobacco exposure and clinicopathologic features". *Clin. Cancer Res* 2006;12(5):1647-53.
46. Almoguera C, Shibata D, Forrester K, Martin J, Arnheim N, Perucho M. "Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-Kras genes". *Cell* 1988;53(4):549-54.
47. Chang L, Karin M. "Mammalian MAP kinase signaling cascades". *Nature* 2001;410(6824):37-40.
48. Weston CR, Lambright DG, Davis RJ. "Signal transduction. MAP kinase signaling specificity". *Science* 2002;296(5577):2345-7.

49. Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH. "Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions". *Endocr. Rev* 2001;22 (2):153-83.
50. Moroni M, Veronese S, Benvenuti S, et al. Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to antiEGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study. *Lancet Oncol.* 2005;6:279-86.
51. Mendelsohn J. Epidermal growth factor receptor inhibition by a monoclonal antibody as anticancer therapy. *Clin Cancer Res.* 1997;3:2703-7.
52. Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: Targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res* 2001;7:2958-70.
53. Downward J. "Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy". *Nat. Rev. Cancer* January 2003;3(1):11-22.
54. Baselga J. The EGFR as a target for anticancer therapy-focus on cetuximab. *Eur J Cancer* 2001;37:Suppl 4:S16-S22.
55. Burmer GC, Loeb LA. "Mutations in the KRAS2 oncogene during progressive stages of human colon carcinoma". *Proc. Natl. Acad. Sci* 1989; U.S.A. 86(7): 2403-7. doi:10.1073/pnas.86.7.2403. PMID 2648401.
56. Malumbres M, Barbacid M. "RAS oncogenes: the first 30 years". *Nat. Rev. Cancer* June 2003; 3(6): 459-65. doi:10.1038/nrc1097. PMID 12778136.
57. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, Oates JR, Clarke PA. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the multicenter "RASCAL" study. *J. Natl. Cancer Inst. (Bethesda)*. 1998;90:675-84.
58. Halatsch ME, Hirsch-Ernst KI, Weinl RJ, Kahl GF. Differential activation of the c-Ki-ras-2 proto-oncogene in human colorectal carcinoma. *Anticancer Res* 1998;18:2323-5.
59. Oudejans JJ, Slebos RJ, Zoetmulder FA, Mooi WJ, Rodenhuis S. Differential activation of ras genes by point mutation in human colon cancer with metastases to either lung or liver. *Int. J. Cancer* 1991;49:875-9.
60. Van Cutsem E, Lang I, D'haens G, et al. KRAS status and efficacy in the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) treated with FOLFIRI with or without cetuximab: the CRYSTAL experience. *J Clin Oncol.* 2008;26(suppl):Abstract 2.

61. Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann JT, et al. KRAS status and efficacy of first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) with FOLFOX with or without cetuximab: the OPUS experience. *J Clin Oncol.* 2008;26(suppl):Abstract 4000.
62. Meyerhardt JA, Mayer RJ. Systemic therapy for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2005;352:476-87
63. Baynes RD, Gansert J. KRAS mutational status as a predictor of epidermal growth factor receptor inhibitor efficacy in colorectal cancer. *Am J Ther.* 2009;16:554-61.
64. Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin oncol.* 2008;26:1624-34.
65. Andereyev HJN, Norman AR, Cunningham D, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the “ RASCAL II” study. *Br J Cancer.* 2001;85:692-6.
66. Samowitz WS, Curtin K, Schaffer D, et al Relationship of K-ras mutations in colon cancers to tumor location, stage and survival: a population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000;9:1193-7.
67. Neufeld D, Shpitz B, Bugaev N et al (2009) Young-age onset of colorectal cancer in Israel. *Tech Coloproctol* 13:201-4.
68. Yeo SA, Chew MH, Koh PK et al (2013) Young colorectal carcinoma patients do not have a poorer prognosis: a comparative review of 2,426 cases. *Tech Coloproctol.*
69. Mannan A, Strömberg V (2011) K-ras mutations are correlated to lymph node metastasis and tumor stage, but not to the growth pattern of colon carcinoma. *APMIS.* 120:459-68.
70. Z Li, Chen Y, Wang D, et al. Detection of KRAS mutations and their associations with clinicopathological features and survival in chinese colorectal cancer patients. *The Journal of International Medical Research.* 2012;40:1589-98.
71. Breivik J, Meling GI, Spørkland A, et al. K-ras mutation in colorectal cancer: relations to patient age, sex and tumour location. *Br. J. Cancer* (1994), 69, 367-71.
72. Bazan V, et al. Specific codon 13 K-ras mutations are predictive of clinical outcome in colorectal cancer patients, whereas codon 12 K-ras mutations are associated with mucinous histotype. *Annals of Oncology* 13:1438-46.

73. 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*, January-March 2012, Volume 49, issue 1.
74. Brink M, de Goeij AF, Weijenberg MP, Roemen GM, et al. K-ras oncogene mutations in sporadic colorectal cancer in the Netherlands cohort study. *Carcinogenesis* 2003;21:703-10.
75. Esteller M, Gonzalez S, Risques RA, et al. K-ras and p16 aberrations confer poor prognosis in human colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:299-304.
76. Estrada P, Rojas-Atencio A, Zabala W, Borjas L, et al. Clinicopathologic associations of K-ras mutations in Venezuelan patients with colorectal cancer. *Invest Clin* 2009;50:55-63.
77. Morin M, Kelly M, Barret M, Delany P. Mutations of Ki-ras and p53 genes in colorectal cancer and their prognostic significance. *Gut* 1994;35:1627-31.
78. Crisemann JD. Adenosquamous and squamous cell carcinoma of the colon. *Am J Surg Pathol* 1978;2:47-54.
79. Michelassi F, Mishlove LA, Stipa F, Block GE, Squamous cell carcinoma of the colon: experience at the University of Chicago, review of the literature, report of two cases. *Dis Colon Rectum* 1988;31: 228-235.
80. Terada T. Histopathological study of the rectum 1,416 consecutive rectal specimens in a single Japanese hospital: II. malignant lesions. *Int J Clin Exp Pathol* 2013;6 (3): 385-94.
81. Cebrian J, Larach SW, Ferrara A, Williamson PR, Trevisani MF, Lujan HJ, Kassir A, Small cell carcinoma of the rectum; report of two cases. *Dis Colon Rectum* 1999; 42: 274-7.
82. Shirouzu K, Morodomi T, Isomoto H, Yamauchi Y, Kakegawa T, Morimatsu M. Small cell carcinoma of the rectum. *Dis Colon Rectum* 1985; 28: 594-6.