

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KOLON KANSERİ İLE TÜKÜRÜK MİKROBİYOM İLİŞKİSİ

Arş. Gör. Dr. Deniz Can GÜVEN

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA
2018

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

KOLON KANSERİ İLE TÜKÜRÜK MİKROBİYOM İLİŞKİSİ

Proje No: 12288

Hızlı Destek

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü

Prof. Dr. Ömer DİZDAR

İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Medikal Onkoloji Bilim Dalı

Araştırmacı(lar)

Doç. Dr. Alpaslan Alp

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Arş. Gör. Dr. Deniz Can Güven

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Arş. Gör. Fatma Nur Akdoğan Kıttana

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

OCAK 2018

ANKARA

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KOLON KANSERİ İLE TÜKÜRÜK MİKROBİYOM İLİŞKİSİ

Arş. Gör. Dr. Deniz Can GÜVEN

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ömer DİZDAR

ANKARA
2018

TEŞEKKÜR

Öncelikle uzmanlık eğitimim ve tez çalışmamın tüm aşamalarındaki katkıları ve desteği için, değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ömer Dizdar'a teşekkür ederim.

Mikrobiyolojik ölçümlerdeki destekleri ve danışmanlıkları konusundaki katkılarından ötürü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Alpaslan Alp ve Arş. Gör. Fatma Nur Akdoğan Kıttana'ya teşekkür ederim.

Hasta alım sürecindeki destekleri nedeniyle Genel Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Erhan Hamaloğlu ve Prof. Dr. Derya Karakoç'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca sevgilerini ve desteklerini esirgemeyen; herşeyimi borçlu olduğum aileme teşekkür ederim.

Son olarak da; çalışmayı destekleyen Hacettepe Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

ÖZET

Güven, DC. Kolon kanseri ve tükürük mikrobiyom ilişkisi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi. Ankara, 2018. Amaç: Bu araştırmada kolorektal kanser (KRK) hastalarının tükürük örneklerinde *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*), *Porphyromonas Gingivalis* (*Pg*) ve *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* (*Sg*) varlığı ve miktarının incelenmesi ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması amaçlandı. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya KRK tanısı yeni konmuş olup henüz herhangi bir tedavi almamış hastalar dahil edildi. Elli yaş üzeri, kanser öyküsü olmayan bireyler kontrol grubuna dahil edildi. *Fn*, *Sg* ve *Pg* suşlarının saptanması ve kantifikasyonu için 16S rRNA ile polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizleri yapıldı ve elde edilen veriler hastalar ve kontrol grubunda karşılaştırıldı. Bakteri miktarları log10 kopya/ml birimi ile raporlandı. **Bulgular:** Çalışmaya 71 hasta 77 kontrol olmak üzere toplam 148 kişi dahil edilerek tükürük örneği alındı. Hasta ve kontrol grubunun mikrobiyolojik ve klinik verileri analiz edildi. Hasta ve kontrol grubundan elde edilen tükürük örneklerinde total bakteri miktarı benzerdi (7,51±0,50 vs 7,45±0,62 log10 kopya/ml, p=0,549), iki grupta *Fn* (%97,2 vs %96,1 p>0,99), *Sg* (%31 vs %27,3 p=0,619) ve *Pg* (%76,1 vs %75,3 p=0,917) saptanma oranları benzerdi. Kantitatif analizde ise hastaların tükürük örneklerinde *Fn* ve *Sg* miktarı kontrol grubundan daha yüksek bulundu. Ortalama *Fn* miktarı hastaların tükürük örneklerinde 6,89±1,07 log10 kopya/ml, kontrollerde ise 6,35±0,78 log10 kopya/ml idi (p=0,001). Ortalama *Sg* miktarı hastaların tükürük örneklerinde 4,12±0,99 log10 kopya/ml, kontrollerde ise 3,15±0,58 log10 kopya/ml idi (p<0,001). Tükürük *Pg* miktarı iki grupta benzerdi. Tümörün yerleşimi (sağ vs sol kolon) ve evresine (Evre 1-2-3 vs evre 4) göre yapılan karşılaştırmalarda *Fn*, *Sg* ve *Pg* saptanma oranları ve miktarı benzerdi. Mikrosatellit instabilite (MSİ) (+) olan grupta *Fn* ve *Sg* miktarının MSİ (-) gruba göre anlamlı derecede daha düşük olduğu görüldü [*Fn* için sırasıyla 6,15 (4,35-7,96) vs 7,03 (5,18-8,97) log10 kopya/ml p=0,036; *Sg* için sırasıyla 3,44 (3,18-3,92) vs 4,13 (3,48-7,44) log10 kopya/ml, p=0,022]. ROC eğrisi analizi ile yapılan değerlendirmede, tükürük *Sg* miktarının KRK'yi öngörmede tanısallık değeri olduğu görüldü (AUC: 0,84 %95 GA 0,72-0,96 p<0,001). Sınır değer 3,32 log10 kopya/ml olarak belirlendiğinde, bunun üzerinde *Sg* miktarının KRK için %82 duyarlılık ve %76 özgüllüğü olduğu görüldü **Sonuç:** Araştırmamızda, kolorektal kanser hastalarının tükürük örneklerinde *Fn* ve *Sg* miktarı kontrol grubundan daha yüksek bulundu. Bu bulgu KRK'nin etiyo-patogenezi, KRK açısından yüksek riskli grupların belirlenmesi, tarama çalışmaları ve KRK'yi önlemeye yönelik ağız ve diş eti sağlığına yönelik çalışmalar için önemli olabilir.

Anahtar Kelimeler: Tükürük, Mikrobiyom, Kolorektal Kanser

Destekleyen Kuruluşlar: Hacettepe Üniversitesi, Proje No: THD-2017-12288.

ABSTRACT

Güven, DC. Association of colon cancer and saliva microbiome. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine Department, Ankara, 2018. **Aim:** The aim of this study was to examine the presence and amount of *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*), *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) and *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* (*Sg*) in saliva samples of colorectal cancer (CRC) patients in comparison with healthy controls. **Material and Method:** Patients with newly diagnosed CRC who have not yet received any treatment were included in the study. Control group consisted of individuals over 50 years of age without a prior diagnosis of malignancy. Polymerase chain reaction (PCR) analyzes were performed with 16S rRNA for identification and quantification of *Fn*, *Sg* and *Pg* strains. Bacterial quantities were reported in log₁₀ copies/ml saliva units. **Results:** A total of 148 subjects including 71 patients and 77 controls were included in the study. The total amount of bacteria in the saliva samples from the patient and control group were similar (7,51±0,50 vs 7,45±0,62 log₁₀ copies/ml, p=0,549). Detection rates of *Fn* (97,2% vs 96,1% p>0,99), *Sg* (31% vs 27,3% p=0,619) and *Pg* (76,1% vs 75,3% p=0,917) were similar in two groups. Mean *Fn* amount was higher in patient saliva samples compared with controls (6,89±1,07 vs 6,35±0,78 log₁₀ copies/ml, p=0,001). Mean *Sg* amount was higher in patient saliva samples (4,12±0,99 vs 3,15±0,58 log₁₀ copies/ml, p<0,001). Saliva *Pg* amount was similar in two groups. The frequency and amount of *Fn*, *Sg*, and *Pg* were similar in the comparison of tumor localization (right vs left colon) and stage (stage 1-2-3 vs stage 4). *Fusobacterium nucleatum* and *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* were found to be significantly lower in the microsatellite instability (MSI) (+) group than in the MSI (-) group [6,15 (4,35-7,96) vs 7,03 (5,18-8,97) log₁₀ copies/ml p=0,036 for *Fn*; 3,44 (3,18-3,92) vs 4,13 (3,48-7,44) log₁₀ copies/ml, p=0,022 for *Sg*, respectively]. Evaluation of the salivary *Sg* amount by ROC curve analysis found to have diagnostic value for CRC (AUC: 0,84 %95 GA 0,72-0,96 p<0,001). Quantity of *Sg* above 3,32 log₁₀ copy/ml was the best predictor cutoff value for CRC with 82% sensitivity and 76% specificity. **Conclusion:** In this study, the salivary samples of colorectal cancer patients had higher amounts of *Fn* and *Sg* than the control group. This finding may be important for etiopathogenesis of CRC, identification of high-risk groups for CRC, screening of CRC and studies of oral and gingival health for CRC prevention.

Keywords: Saliva, Microbiome, Colorectal cancer

Supporting organizations: Hacettepe University, Project Number: THD-2017-12288.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2-23
2.1. Epidemiyoloji	2
2.2. Etiyoloji	2
2.3. Kolorektal Kanserden Korunma	9
2.4. Kolorektal Kanser Taramaları	11
2.5. Kolorektal Kanser Tanısı	17
2.6. Kolorektal Kanser Tedavisi	22
3. MATERYAL-METOT	24-28
3.1. Örnekler ve Verilerin Toplanması	24
3.2. Real-time PCR yöntemi	24
3.3. İstatistiksel Analiz	28
3.4. Etik Kurul Onayı	28
4. BULGULAR	29-35
4.1. Demografik Veriler	29
4.2. Tümör özellikleri	29
4.3. Mikrobiyolojik İnceleme Sonuçları	30

5. TARTIŞMA	36-44
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	45-46
KAYNAKLAR	47-59
EKLER	
Ek 1. Etik Kurul Onayı	



SİMGELER VE KISALTMALAR

AJCC	American Joint Committee on Cancer
AUC	Area Under Curve
BT	Bilgisayarlı tomografi
CD	Cluster of differentiation
CEA	Karsinoembriyonik antijen
CFU	Colony forming unit
COX-2	Siklooksijenaz-2
DNA	Deoksiribonükleik asit
EGFR	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
FAP	Familiyal adenomatöz polipozis
FDA	Food And Drug Administration
FIT-DNA	Fekal immünokimyasal test-deoksiribonükleik asit
<i>Fn</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
FOLFIRI	Florourasil, lökovorin ve irinotekan
FOLFOX	Florourasil, lökovorin ve oksalipatin
GA	Güven Aralığı
GİS	Gastrointestinal sistem
gr	Gram
HNPCC	Hereditör non-polipozis kolorektal kanser
HPV	Human papilloma virus
İBH	İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları
IgG	İmmünglobulin G
IL	İnterlökin
KRK	Kolorektal kanser
MAP	MUTYH ilişkili polipozis
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MMP3	Matriks metalloproteinaz 3
MSİ	Mikrosatellit instabilitesi
NF-κ	Nükleer faktör kappa
NSAİİ	Non-steroid antiinflamatur ilaç

PCR	Polymerase chain reaction
<i>Pg</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
RNA	Ribonükleik asit
ROC	Receiver Operating Characteristics
<i>Sg</i>	<i>Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus</i>
SPSS	Statistical Packages for Social Sciences
ss	Standart sapma
TNF- α	Tümör nekrozis faktör
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü



ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
4.3.1. <i>Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus</i> için ROC eğrisi	35
4.3.2. <i>Fusobacterium nucleatum</i> için ROC eğrisi	35
4.3.3. <i>Porphyromonas gingivalis</i> için ROC eğrisi	35



TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Kolorektal kanser evrelemesi (AJCC 8)	19-20
2.2. Sağ ve sol kolorektal kanser temel farklılıkları	22
3.2.1. “Real-time PCR”da kullanılan primer dizileri	26
3.2.2. “Real-time PCR”da kullanılan prob dizileri	26
3.2.3. “Real-time PCR” karışımı	27
3.2.4. “Real-time PCR” sıcaklık döngüleri	27
4.1. Demografik veriler	29
4.2. Tümör özellikleri	30
4.3.1. Hasta ve kontrol gruplarında total bakteri miktarının değerlendirilmesi	30
4.3.2. Hasta ve kontrol gruplarında <i>Fusobacterium nucleatum</i> varlığının ve miktarının değerlendirilmesi	31
4.3.3. Hasta ve kontrol gruplarında <i>Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus</i> varlığının ve miktarının değerlendirilmesi	31
4.3.4. Hasta ve kontrol gruplarında <i>Porphyromonas gingivalis</i> varlığının ve miktarının değerlendirilmesi	32
4.3.5. Mikrosatellit instabilitesi pozitif ve negatif tümörlerde <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus</i> ve <i>Porphyromonas gingivalis</i> varlığı ve miktarının değerlendirilmesi	32
4.3.6. Sağ ve sol kolon tümörlerinde <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus</i> ve <i>Porphyromonas gingivalis</i> varlığı ve miktarının değerlendirilmesi	33
4.3.7. Evrelere göre <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus</i> ve <i>Porphyromonas gingivalis</i> varlığı ve miktarının değerlendirilmesi	34
5.1. Literatürde oral mikrobiyom ve kanser ilişkisini inceleyen çalışmalardan örnekler	43

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal kanser (KRK), dünya genelinde en sık görülen kanserlerden biri olup tarama ve tedavi stratejilerindeki gelişmelere rağmen önemli bir halk sağlığı sorunu olmayı sürdürmektedir. Tanımlanmış genetik nedenler tüm KRK vakalarının yaklaşık %5'inden sorumlu iken, diyet ve fiziksel aktivite gibi çevresel faktörler vakaların büyük kısmında önemli rol oynamaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalarda ise geleneksel risk faktörlerine ek olarak gastrointestinal mikrobiyomdaki değişikliklerin de KRK gelişiminde önemli olabileceği bildirilmektedir.

Kolorektal kanserde tümör dokusu ve gaita örnekleriyle yapılan birçok araştırmada mikrobiyom değişiklikleri incelenmesine karşın, tükürükte bu değişiklikleri inceleyen çalışmalar son derece kısıtlıdır. Tükürük mikrobiyomu, oral kaviteyi yansıtan bir yapıya sahiptir. Oral kavite mikrobiyomunun sistemik hastalıklarda değiştiği birçok araştırmada gösterilmiştir. Bu değişikliklerin patogenetik önemi tam olarak bilinmemekle birlikte, bu değişiklikler tarama ve prognoz gibi alanlarda önemli olabilir [1].

Araştırmamızda amaç, kolorektal kanser ile birlikteliği gösterilmiş olan *Fusobacterium nucleatum* (Fn), *Porphyromonas gingivalis* (Pg) ve *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* (Sg) bakterilerinin KRK hastaları ve sağlıklı kontrollerde saptanma oranları ve miktarının karşılaştırılması olarak incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epidemiyoloji

Kolorektal kanser, dünya genelinde kadınlar ve erkeklerde en sık tanı alan üçüncü kanser olup, yılda bir milyondan fazla yeni kolon kanseri vakası bildirilmektedir. Klasik risk faktörleri olan kırmızı et tüketimi ve sigara gibi risk faktörlerinde azalma, tarama testlerinin yaygınlaşması ve tedavideki gelişmelerle beraber, son yıllarda kolon kanserinin insidans ve mortalitesinde azalma göze çarpmaktadır [2].

Kolorektal kanser genel olarak ileri yaş hastalığı olarak kabul edilebilir. Kırk yaşın altında nadir olup, hastalığın insidansı 50 yaş üzerinde hızla artmaktadır [3]. Genel olarak batılı diyet ve yaşam tarzının yaygın olduğu bölgeler olan Kuzey Amerika, Avrupa, Avustralya ve Yeni Zelanda'da en yüksek insidanslar bildirilmiştir. Asya ve Afrika kıtası, kolorektal kanser insidansının en düşük olduğu bölgelerdir [4].

Mortalite

Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre, kolorektal kanserin beş yıllık sağkalımı %65 düzeylerindedir. Kolorektal kanser ilişkili mortalitede, 1976-2000 yılları arasında %26 azalma olmuştur. Kolorektal kanser ölüm hızlarında ise 2000-2013 yılları arasında; 50 yaş ve üstü popülasyonda %34, 50 yaş altı popülasyonda ise %13 azalma izlenmiştir. Bu durumun başlıca nedenleri; prekanseröz poliplerin tarama metotları ile tanınıp rezeke edilmesi, tarama metotları ile KRK'nin daha erken evrelerde yakalanması, risk faktörlerinin azalması ve KRK tedavi metodlarındaki iyileşmeler olarak sıralanabilir [2,5].

2.2. Etiyoloji

Risk Faktörleri

Kolorektal kanser ile ilgili tanımlanmış risk faktörleri; aile hikâyesi, bireysel medikal hikâye ve yaşam tarzı ilişkili risk faktörleri olarak üçe ayrılabilir. Spesifik

mutasyonlar KRK vakalarının %5'inden azından sorumlu tutulurken çevresel faktörlerin KRK gelişiminde majör etkenler olduğu düşünülmektedir [6].

Son yıllarda, KRK ile bazı gastrointestinal sistem (GİS) flora bakterileri arasındaki ilişkiyi irdeyelen birçok araştırma yapılmış olup KRK'nin patogeneğinde bakterilerin de rolü olabileceği hipotezi, bu çalışmalardan elde edilen verilerle güçlenmiştir [7].

Hereditör Kanser Sendromları

Kolorektal kanser vakalarının yaklaşık %20'sinde aile hikâyesi olmasına karşın mendelyan genetik ile aktarılan sendromlar, vakaların %5'ini oluşturmaktadır. Familial adenomatöz polipozis (FAP) ve hereditör non-polipozis kolorektal kanser (HNPCC) başta olmak üzere bu sendromların bir kısmında özel genetik test ve tarama önerileri oluşturulmuştur [8-9].

Hereditör kanser sendromları; klinik, patolojik ve genetik bulgulara göre sınıflandırılmaktadır. İlgili sendromdaki polip türü sınıflandırmalarda ana belirleyici olup; polipozis sendromları bu doğrultuda adenomatöz, hamartomatöz ve hiperplastik polipozis olmak üzere üçe ayrılabilir. Adenomatöz polipler ile seyreden sendromlar; HNPCC, FAP, atenu FAP, Turcot sendromu, Gardner sendromu, MUTYH ilişkili polipozis (MAP) olarak tanımlanabilir [10]. Hamartomatöz polipler ile seyreden sendromlar Peutz-Jeghers sendromu, ailesel juvenil polipozis ve Cowden sendromudur [11]. Hiperplastik polipozis (HPP) ise nadir görülen ancak kanser riskinde önemli derecede artışa neden olan bir durumdur [12]. MUYTH ilişkili polipozis dışındaki bütün sendromlar otozomal dominant kalıtılırken, MAP otozomal resesif kalıtılmaktadır. Bu sendromlar arasında en sık görülenler ise FAP ve HNPCC sendromlarıdır [5].

Kolorektal kanser tanısı alan hastalarda postoperatif dönemde yılda ortalama %0,3 metakron (primer tümörden en az 12 ay sonra gelişen tümör) tümör gelişmektedir [13]. Kendisinde ya da ailesinde sporadik kolorektal kanser veya adenomatöz polip olanlarda özellikle de polip boyutu büyük olan (>1 cm), birden fazla polibi olan veya ilerlemiş lezyonu olan (yüksek dereceli displazi veya villöz histoloji) vakalarda, kolon kanseri gelişme ihtimali artmıştır [14-15]. Çalışmalarda

50 yaşın altında olan ve ilerlemiş lezyonu olan hastalarda (>1 cm veya villöz histoloji) KKK riskinin arttığı gösterilmiş olup bu hastalara yönelik özel tarama ve takip önerileri geliştirilmiştir [16].

Aile hikâyesi KKK için önemli bir risk faktörüdür. En az bir tane 1. derece akrabada KKK öyküsü, kolon kanseri riskini genel popülasyona göre 2 kat artırmaktadır. İkinci ve 3. derece akrabalarda KKK olması ve bu akrabalarda KKK tanısının 50 yaşın altında konması da kolon kanseri riskini artırmaktadır [17]. Bu bağlamda, birinci derece bir akrabasına 50 yaşın altında kolon kanseri tanısı konmuş bireylere, 40 yaşından itibaren veya en erken tanı alan akrabanın yaşından on yıl önce başlanarak kolon kanseri taraması yapılması önerilmektedir [18].

İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları (İBH)

İnflamatuvar bağırsak hastalığı olanlarda (ülseratif kolit ve Crohn hastalığı), kolorektal kanser riski artmıştır [19]. Ülseratif kolit hastalarında; hastalık süresi ve tutulum yaygınlığı KKK ile ilişkili ana faktörlerdir. Pankolit ve sol kolit tutulumlarında belirgin artmış risk mevcuttur. Ayrıca inflamasyonun şiddetli olması, ailede KKK hikâyesi ve primer sklerozan kolanjit varlığı kanser riskini arttırmaktadır. İzole rektum tutulumu olan hastalarda KKK riski artmamış görülmektedir [20-21]. Amerikan Gastroenteroloji Derneđi, pankoliti olan olgularda tanıdan 8-10 yıl sonra, sol kolon yerleşimli kolitte ise tanıdan 15-20 yıl sonra başlanarak, tarama amaçlı 1-2 yılda bir kolonoskopi yapılmasını önermektedir [22-23].

Crohn hastalarında, sağlıklı popülasyona göre artmış KKK riski olmasına karşın, bu risk ülseratif kolitteki kadar belirgin değildir. Kolondaki tutulumun yaygınlığına göre KKK riski değişkenlik göstermekte olup, pankolit olgularında risk artışı en belirgindir. Crohn hastalarında KKK taraması açısından tam bir konsensus bulunmamakla birlikte Amerikan Gastroenteroloji Derneđi, tanıdan 8 yıl sonra başlanarak 1-3 yıl aralıklarla kolon kanseri taraması yapılmasını önermektedir [24].

Yaş ve Cinsiyet

Epidemiyolojik çalışmalarda kolon kanseri riskinin yaşla birlikte arttığı görülmüştür. Kırk yaşın altında nadir olan KRK insidansı, 50 yaşın üstünde belirgin olarak artmaktadır [2-3]. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından yayınlanan 2013 Yılı Türkiye Kanser İstatistiklerinde de 35-39 yaş arası erkeklerde 100.000’de 3,1 olan kanser insidansı yaşla birlikte artarak 70-74 yaşları arasında 100.000’de 130’a kadar çıkmaktadır [25].

Kolorektal kanser, erkeklerde daha fazla görülmektedir ancak ileri yaşlarda ve postmenopozal kadınlarla karşılaştırıldığında bu fark azalmaktadır. Araştırmalarda erkeklerde en sık rektum kanseri görülürken, kadınlarda sağ kolon kanserleri daha sık görülmektedir. Postmenopozal kadınlarda azalan östrojene bağlı, mikrosatellit instabilitesi (MSI) olan proksimal kolon kanserlerinin artışı ile iki cinsiyet arasındaki farkın azaldığı düşünülmektedir [26-27].

Diyabet ve Obezite

Diyabet ve KRK arasında bir ilişki olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Bu ilişki kısmen obezite ve fiziksel inaktivite ile açıklanmasına rağmen, diyabet varlığı ek olarak bağımsız bir risk faktörü gibi görünmektedir [28].

Obezite, özellikle de abdominal obezite, KRK için bağımsız bir risk faktörüdür. Bu ilişki özellikle erkeklerde daha belirgin olup insülin rezistansı ve hiperinsülinizm patogenezi sorumlu tutulmaktadır [29].

Alkol

Yüksek alkol alımı ile KRK ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu konuda 2014 yılı öncesi yapılan çalışmaların değerlendirildiği bir meta-analizde düzenli alkol alanlarda, hafif (<12,5 gr/gün) içicilerde %7, orta içicilerde (12,6-49,9 gr/gün) %23, ağır içicilerde (>50 gr/gün) ise %37 KRK risk artışı olduğu belirtilmiştir. Risk artışı, iki cinsiyet için de geçerli olup tümör bölgesinden bağımsız olarak izlenmiştir [30].

Sigara

Sigara ile kolorektal kanser arasında ilişki bildirilmiş olup, risk artışının sigara bırakıldıktan sonra 25 yıla kadar sürdüğü belirtilmiştir. Sigara ile KRK arasındaki en güçlü ilişki rektum kanserlerinde izlenmektedir [31-32].

Mikrobiyom

İnsan vücudunda $\geq 10^{14}$ mikrobiyal hücre olup, bu sayının tüm somatik ve germ hücrelerimizin toplamının yaklaşık on katı olduğu düşünülmektedir [33]. Bu mikrobiyal hücreler arasında bakteriler, arkae ailesi, ökaryotlar (mantar) ve virüsler bulunmaktadır. Bu mikrobiyal yapı ve bu yapının kolektif genomuna beraber mikrobiyom adı verilmektedir. Mikrobiyom, normal şartlarda konak metabolizması ve immünesinde aldığı rollerle konak sağlığının korunmasına katkıda bulunmaktadır [34].

Son zamanlarda, yeni nesil dizileme ve hedeflenmiş 16S RNA (ribonükleik asit) analizlerini birleştiren metagenomik analizler yardımı ile bu yapı tanımlanmakta olup, farklı anatomik bölgelerdeki mikrobiyom kompozisyonu öğrenilmektedir [35-37]. Mikrobiyom statik bir yapı olmayıp; diyet, çevresel faktörler, ilaç kullanımı ve kronik hastalıklar ile değişmektedir. Disbiyozis olarak adlandırılan normal mikrobiyomdan sapmalar, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, kolon kanseri, irritabl bağırsak hastalıkları da dahil olmak üzere birçok gastrointestinal sistem hastalığına neden olmaktadır [38].

Dünya genelinde yeni tanı konan kanserlerin yaklaşık %20'si, Uluslararası Kanser Araştırmaları Topluluğu tarafından tanımlanmış olan infeksiyöz ajanlara sekonder gelişmektedir [39]. *Helicobacter pylori*, hepatit B ve C virüsleri ve human papilloma virus (HPV) bu ajanların başında gelmekte olup, bu ajanların spesifik kanser türleri ile belirgin bir ilişkisi mevcuttur. Kolon kanserinde ise spesifik mikroorganizmalar aracılığıyla tümör promosyonu yanında, kolektif mikrobiyom değişikliklerinin de patogenetik rolü olduğu düşünülmektedir [40]. Gastrointestinal sistem mikrobiyomundaki değişikliklerin kolon kanseri ile ilişkili olabileceği, kırk yılı aşkın süredir tartışılan bir hipotezdir. Kolonik mikrobiyomun, epitel hücre proliferasyon ve diferansiasyonu, esansiyel besin ve biyoaktif ürünlerin üretimi, patojenik organizmalarının üremesinin engellenmesi ve immün sistemin

stimülasyonu basamaklarına etki ederek KRK gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir [41].

Mikroplar ve kolon kanseri ilişkisi ilk olarak 1951 yılında Mccoy ve Mason tarafından, infektif endokardit ve kolon kanseri birlikteliği ile öne sürülmüştür. 1974 yılında ise bu ilişkinin *Streptococcus bovis* (yeni adıyla [42] *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus*) aracılığıyla olduğu ortaya konulmuştur [43]. Mikrobiyomun kanser patogenezindeki yerine ilişkin en erken verilerden biri 1997 yılında yayınlanan bir araştırmadan gelmektedir. Genetik bir fare modeli olan $Apc^{min/+}$ modelinde bakteri varlığı olmayan ortamda yetiştirilen (germ-free) farede, patojen olmayan bakterilerin bulunduğu ortamda üretilen fareye kıyasla daha az intestinal adenom geliştiği gösterilmiştir [44]. Daha sonra yapılan araştırmalarda, *Bacteroides fragilis* ve *Escherichia coli*'nin bir suşunun KRK gelişimine katkıda bulunabileceği belirtilmiştir [45-48]. İnsanlarda yapılan kültür bazlı çalışmalarda, KRK ile *Sg* ve *Clostridium septicum* arasındaki ilişki rapor edilmiştir [42, 49-50].

Yapılan gaita ve tümör dokusu çalışmalarında; *Fusobacterium nucleatum* [51-52], *Prevotella* [53], *Porphyromonas* [54-55], *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* [56], *Coriobacteridae* [57], *Eubacteriaceae* [55], *Staphylococcaceae* [55] , *Enterobacteriaceae* [58], *Campylobacteraceae* [55], *Escheria coli* [59], *Methanobacteriales* [58], *Akkermansia muciniphila* [60] bakterilerinin, kolorektal kanser hastalarında göreceli olarak arttığı gösterilmiştir. Bu bakterilerden *Fusobacterium nucleatum* ve *Porphyromonas gingivalis*'in, PCR ile tükürükte de tespit edilebildiği gösterilmiştir [61].

Gram negatif, anaerobik bir bakteri olan *Fusobacterium nucleatum*, kolit ve periodontal hastalıklar ile ilişkili bir bakteridir [62-63]. *Fusobacterium nucleatum* ile KRK ilişkisi, hem tümör dokusu hem de fekal örneklerde, birden fazla araştırmada gösterilmiştir [64-66]. Çalışmalarda KRK tanısı olan hastalarda *Fusobacterium nucleatum*'un kolon ve gaytada rölatif artışı gösterilmesine karşın, bu bakterinin KRK gelişimindeki rolü, insanlarda tam olarak ortaya konulamamıştır. *Fusobacterium nucleatum*'un, KRK gelişiminde etiyolojik rolü olabileceği gibi, sadece tümör ortamının bu bakterinin kolonize olmasını

kolaylaştırıcı etkileri nedeniyle tümörlü dokularda sık görüldüğü ve herhangi bir kanserojen etkisinin olmadığı da öne sürülmektedir [52, 67].

Porphyromonas gingivalis, ağızda ve gastrointestinal traktusta sıklıkla bulunan ve periodontal hastalıklar ile ilişkili olan bir bakteridir [68]. Jinjival epitelyal hücrelerin *Porphyromonas gingivalis* ve *Fusobacterium nucleatum*'a maruz kalması halinde, hücre büyümesinin kontrolü ve inflamasyondan sorumlu genlerinde histon metilasyonunda farklılıklar izlenmiştir [69]. 2012 yılında seroloji ile yapılan bir epidemiyolojik çalışmada, serum *Porphyromonas gingivalis* IgG (immünglobulin G) ile KRK mortalitesi arasında ilişki bulunmuştur. Analizde toplam olay sayısı az olmasına rağmen (KRK mortalitesi=39), bu ilişki dikkat çekicidir [70]. Fekal mikrobiyom çalışmalarında, KRK hastalarında kontrol grubuna kıyasla, daha fazla *Pg* bulunduğu dair çalışmalar mevcuttur [54, 71].

Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus (Sg); oksidaz ve katalaz negatif, gram pozitif bir bakteri olup çiftler veya zincirler oluşturan kok şeklinde büyümektedir [72]. Endokardit ile KRK ilişkisinden hareketle KRK ile ilişkisi tanımlanmış olan bu patojen hakkında, 1970-2010 yılları arasında yapılan araştırmaların incelendiği bir sistematik analizde, *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* ile endokardit ve/veya bakteriyemisi olup endoskopik inceleme yapılan hastaların %60'ında kolorektal neoplazi (adenom veya kanser) tespit edilmiştir [73]. *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* enfeksiyonu olanlarda kolon neoplazisi açısından tarama ve takip yapılması önerilmektedir [74]. *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus*'un kolon neoplazisi üzerinde kolonize olarak bakteriyemi yapması yanında, bu patojenin siklooksijenaz-2 (COX-2) yolağını etkileyerek, kolorektal karsinogenezin promosyon fazında da rolü olduğu düşünülmektedir [43].

Fusobacterium nucleatum ve *Porphyromonas gingivalis*, sağlıklı bireylerde PCR (polymerase chain reaction) ile tükürük örneğinden saptanabilmiştir [61] ancak GİS malignitesi olanlarda bu patojenlerin tükürükte tespiti ile ilgili literatürde çok az çalışma bulunmaktadır [75-76]. İngilizce ve Türkçe literatürde, *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus*'un tükürükte izolasyonu ile malignite korelasyonunu irdeleyen bir çalışma yoktur.

2.3. Kolorektal Kanserden Korunma

Fiziksel Aktivite

Fiziksel aktivitenin kolorektal kansere karşı koruyuculuğu literatürde birçok kez gösterilmiştir. Bir meta-analizde fiziksel aktivitenin kolon kanseri riskini erkeklerde %24, kadınlarda ise %21 azalttığı gösterilmiştir [77]. Yüksek derecede fiziksel aktivitesi olan bireylerde ise kolon kanseri riskinde %40-50'ye varan azalma olabileceği bildirilmiştir [78]. Ayrıca kolorektal kanser tanısı öncesi fiziksel aktivite düzeyinin sağkalım ile de ilişkisi gösterilmiştir. Altıyüz altmış sekiz kolorektal kanserli erkek hastanın değerlendirildiği bir çalışmada, tanı öncesi fiziksel aktivite düzeyinin yüksek olmasının tüm nedenlere bağlı sağkalım ve kolorektal kanser ilişkili sağkalımı uzattığı gösterilmiştir [79].

Fiber Tüketimi

Diyette fiber alımının artırılması ile KRK riskinde %50'ye varan azalma olduğu, 1990 ve 1992 yıllarında yayımlanan 2 meta-analizde belirtilmiştir [5]. Buna karşın, prospektif kohort çalışmalarında bu ilişki doğrulanamamıştır [80-81]. Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening çalışması kohortundan yapılan analizlerde ise en yüksek fiber tüketimi olan grupta %24 KRK riski azalması izlenmiş olup bu risk azalmasının kolorektal karsinogenezin erken evrelerinden başladığı öne sürülmüştür [82].

Kırmızı Et Tüketiminin Azaltılması

Kırmızı et tüketimi ile KRK ilişkisini destekleyen birçok araştırma mevcuttur. Bu konuda yapılan ilk araştırmalardan birinde, hane başı kırmızı et tüketimi ile KRK insidansı arasında güçlü bir ilişki olduğu bildirilmiştir [83]. 1990 yılı sonrası ise toplum temelli geniş prospektif kohort çalışmalarında benzer ilişki bildirilmiştir. Nurses' Health Study'de her gün ana öğünlerden birinde kırmızı et tüketen grupta, ayda birden daha az sıklıkta kırmızı et tüketen gruba kıyasla 2,5 kat artmış KRK riski olduğu gösterilmiştir [84].

Folat Desteği

Folatın KKK'den koruyucu bir rolü olduğu öne sürölmesine karşın, folat replasmanı ile KKK riskinde azalma izlenmemiştir [85]. Sekiz randomize kontrollü çalışmanın incelendiği bir meta-analizde folik asit replasmanının kolorektal kanser riskine etkisi olmadığı saptanmıştır [86]. Folat replasmanının KKK'ye etkilerinin incelendiği prospektif bir çalışmada ise folat replasmanı ile multipl adenom gelişiminin arttığı gösterilmiştir [87]. Bu veriler ışığında, KKK önlenmesinde folat replasmanı önerilmemektedir.

Kalsiyum ve D Vitamini

Kalsiyum ve D vitaminin KKK'den koruyucu rolü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. The Nurses Health Study ve the Health Professionals Follow-up Study kohort çalışmalarında kalsiyum alımı 4 yılda bir değerlendirilmiş ve yüksek kalsiyum alımının kolon kanseri riskini (özellikle distal kolon) azalttığı saptanmıştır [88]. Kalsiyum alımı ile polip nüksünde azalma da literatürde not edilmiştir [87]. D vitamini ve analoglarının KKK gelişimi ve KKK metastazlarını inhibe ettiği bildirilmiştir. Bir meta-analizde 25 hidroksivitamin-D düzeyinin 20 ng/ml'nin üzerinde olmasının rektum kanseri riskini %59, kolon kanseri riskini %22 azalttığı saptanmıştır [89].

Aspirin ve Non-steroid Antiinflamatur İlaç

Epidemiyolojik veriler, düzenli ve uzun süreli aspirin kullanımının KKK riskini azalttığını göstermektedir. Uzun süreli kullanım gerekliliğinin temelini, KKK prekürsör lezyonları olan adenomların oluşumu ve nüksünün azaltılması hedefi oluşturmaktadır [90]. Üç yüz bir bin iki yüz kırk kişinin katıldığı 10 yıl süren bir kohort çalışmada, herhangi bir NSAİİ (non-steroid antiinflamatur ilaç) kullanımının kolorektal kanser riskini %20 azalttığı saptanmıştır [91]. Başka bir araştırmada NSAİİ kullanımının KKK riskini azalttığı ve bu risk azalmasının cinsiyet, vücut kitle indeksi, sigara kullanımı, fiziksel aktivite ve KKK taraması yapılmasından bağımsız olduğu belirlenmiştir [92].

2.4. Kolorektal Kanser Taramaları

Kolorektal kanserlerin büyük kısmı, premalign lezyonlar olan adenomlardan gelişmektedir. Bu ilerleme genellikle öncelikle polip boyutunun büyümesi, sonra polipte displastik özelliklerin gelişmesi daha sonra da kolorektal kanser gelişimi şeklinde olmaktadır [93]. Adenomların rezeke edilmesinin KRK riskini azalttığı 1993 yılında yayınlanan The National Polyp Study çalışmasında gösterilmiştir. KRK taramasına alınarak endoskopik polipektomi yapılan 1418 hastanın izleminde, polipektomi ile KRK gelişme riskinde %90'a varan azalma izlenmiştir [94].

Adenomdan karsinom gelişiminin ortalama 10 yılda olduğu düşünülmektedir [95]. Bu hipotez kolonoskopi ile taramanın 10 yılda bir yapılması önerisine de temel oluşturmaktadır [96]. Sekiz milimetrenin üstündeki adenomlarda displastik değişiklikler bulunması ve kanser gelişme ihtimali daha yüksektir [97]. Genel anlamda KRK riski adenom boyutunun artması, adenom sayısının artması ve adenomda villöz histoloji bulunması ile artmaktadır [98]. Saptanan adenomların büyük kısmı polipoid olmakla birlikte poliplerin %20'sinden fazlasının düz veya deprese olduğu bilinmektedir [99]. Bu lezyonların kolonoskopide tanınması daha zor olup, bu lezyonlar sıklıkla ileri mukozal değişiklikler ile birlikte dir.

Erişkin popülasyonda erkeklerin %30'unda, kadınların ise %20'sinde kolonda adenom görülmektedir. Bu prevalans yaşla beraber artmaktadır [100]. Adenomlar, kolon boyunca görece dengeli dağılmasına karşın; pedinküllü (saplı) lezyonlar daha çok distal kolonda, düz veya deprese lezyonlar daha çok proksimal kolonda izlenmektedir [101]. Kolonoskopide izlenen lezyonlar tübüler ve villöz olarak ikiye ayrılabilir. Adenomların çoğunluğu tübüler adenom morfolojisindedir. Yapısında %25'ten fazla villöz yapı bulunduran lezyonlara tübülovillöz, %75'ten fazla villöz yapı bulunduran lezyonlara ise villöz adenom adı verilmektedir. Villöz yapı, boyutu büyük adenomlarda ve adenomda displazi varlığında daha sık görülmektedir [102].

Kolorektal kanser taramasında önemli bir kavram de ilerlemiş lezyonların tanımıdır. Genel olarak 1 santime eşit veya daha büyük lezyonlar, yüksek dereceli displazi içeren lezyonlar ve villöz yapı içeren lezyonlar ilerlemiş lezyon olarak

adlandırılmaktadır [103]. İlerlememiş lezyonlarda KRK ihtimalinin düşük olması nedeniyle, tarama testlerinin ileri lezyonları yeterli düzeyde belirlemesi halinde faydalı olacağı öngörülmektedir [96].

Kılavuzlarda, 50 yaşın üstünde olup; KRK için aile hikâyesi olmayan, İBH hikâyesi olmayan, adenom, serrate adenom veya KRK hikâyesi olmayan bireyler ortalama risk grubunda değerlendirilmektedir [18]. Bu kriterlerin tamamını karşılamayan bireylerde genel popülasyondan farklı sıklıkta tarama testlerinin yapılması uygun olacaktır.

Kolorektal kanser taramasında kullanılan testler geleneksel olarak, feçes bazlı testler ve endoskopik ve radyolojik testler olarak ikiye ayrılmaktadır. Feçes bazlı testler; guaiac-bazlı gaytada gizli kan testi, fekal immünokimyasal test ve fekal immünokimyasal test-deoksiribonükleik asit (FIT-DNA) testidir. Kolonoskopi, bilgisayarlı tomografi kolonoskopi, sigmoidoskopi ve kapsül kolonoskopi ise endoskopik ve radyolojik tarama testleridir. Bu modalitelere ek olarak bir kan testi olan, serum septin9 düzeyleri tayini de yakın zamanda kolon kanserinde kullanılmak üzere FDA (Food And Drug Administration) onayı almıştır [96].

Daha önce kolon kanseri taramasında kullanılmış olan baryumlu kolon grafisi, rektal dijital muayene ve ofis bazlı gaytada gizli kan testi günümüzde kolon kanseri taramasında önerilmemektedir [104].

Kolonoskopi

Kolorektal kanser taramasının kolonoskopi ile yapılmasının avantajları arasında, KRK ve prekanseröz lezyonlar için yüksek sensitiviteye sahip olması, aynı seansta tanı ve tedavinin sağlanabilmesi ve incelemeler arasındaki aralıkların uzun olması sayılabilir [96]. Kolonoskopi ile taramaya ilişkin randomize kontrollü çalışmalar bulunmamakta, kolonoskopik taramaya ilişkin veriler vaka kontrol çalışmaları ve kohort çalışmalarından gelmektedir [18]. Amerika Birleşik Devletleri ve Almanya'dan yapılan çalışmalarda, kolonoskopi ile tarama yapılmasıyla KRK insidans ve mortalitesinde distal kolonda %80, proksimal kolonda %40-60 azalma izlenmiştir [101, 105-107]. Kalitesi ve kapsamında değişkenlikler olsa da KRK taramasında en sık kullanılan yöntem olarak bilinmektedir. Kolonoskopinin

faydalarının optimize edilmesi için çekuma ulaşma oranı, adenom tespit oranı, minör ve majör komplikasyon gibi kalite indikatörleri ile kolonoskopi yapılan merkezlerin izlenmesinin olacağı düşünülmektedir [108].

Kolonoskopinin dezavantajları ise kapsamlı bağırsak temizliği gerekliliği, sedasyon gerekliliği, diğer metotlara kıyasla daha yüksek perforasyon, aspirasyon pnömonisi ve post-prosedür kanama riski olarak sayılabilir. Ancak geniş kapsamlı çalışmalarda bu komplikasyonlara sekonder mortalitenin nadir olduğu görülmektedir [109].

Kolonoskopinin operatör bağımlı bir tetkik olduğu unutulmamalıdır. Amerikan Gastroenteroloji Cemiyeti tarafından, operatör yeterlilik kriterlerinin düzenli olarak kontrol edilmesi önerilmiştir. Kolonoskopinin sağ kolon tümörlerindeki yeterliliği literatürde birçok defa sorgulanmıştır [95, 105, 110].

Fleksibl Sigmoidoskopi

Fleksibl sigmoidoskopi, sol kolonu değerlendirmeye yarayan endoskopik bir görüntüleme metodudur. Sigmoidoskopi, görüntüleme ile eş zamanlı olarak poliplerin tedavisine de olanak sağlamaktadır. Düşük maliyetli bir metot olup sedasyon gerektirmemektedir. İşlem öncesi temel bir bağırsak temizliği sonrası uygulanabilmesi de avantajları arasında sayılmaktadır [96, 108].

Sigmoidoskopinin bu avantajları yanında, sağ kolonu değerlendirememesi önemli bir dezavantaj gibi gözükmektedir. Sağ kolon tümörlerinin artış gösterdiği ileri yaş kadınlarda, bunun ciddi bir sorun olacağı öngörülmektedir [111] .

Bazı çalışma grupları, fleksibl sigmoidoskopinin yıllık gaytada gizli kan veya fekal immünokimyasal test ile kombine edilmesini önermektedir ancak bu uygulamanın hasta uyumunu düşürebileceği göz önünde bulundurulmalıdır [108] .

Geleneksel olarak 5 yılda bir yapılması önerilen fleksibl sigmoidoskopinin, endoskopik bir metot olması nedeniyle 10 yılda bir da yapılabileceği görüşü yeni kılavuzlarda dile getirilmektedir [96, 108].

Kapsül Kolonoskopi

Bu teknikte hasta, kablosuz bağlantı ile görüntü kaydı yapan bir video kamerayı yutmaktadır. Prosedür sedasyon gerektirmemekle birlikte işlem öncesi kapsamlı bağırsak temizliği yapılması gerekmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde, inkomplet kolonoskopisi olan hastalarda onay almıştır. Kapsül kolonoskopide patolojik bulgular varlığında kolonoskopik inceleme yapılması gerekmektedir. Sekiz yüz seksen dört hastanın dahil edildiği bir çalışmada, kapsül kolonoskopinin >6 milimetre (mm) adenomlarda sensitivitesinin %88 olduğu ancak düz lezyonlarda inefektif olduğu belirtilmiştir [112] .

Kapsül endoskopinin günümüzde KRK için ortalama riske sahip genel popülasyonda tarama testi için onayı bulunmamaktadır. Amerikan Gastroenteroloji Cemiyeti tarafından 3. sıra tarama testi olabileceği belirtilmiştir [96] .

Bilgisayarlı Tomografi (BT) Kolonografi

Sanal kolonografi olarak da adlandırılan BT kolonografi, günümüzde umut vadeden bir tarama metodu olarak öne çıkmaktadır. Non-invaziv olan ve sedasyon gerektirmeyen bu metodun, yapılan geniş ölçekli çalışmalarda sensitivite ve spesifitesinin %90'a yakın olduğu belirtilmiştir [113]. Özellikle 1 cm üzeri lezyonları tespit etmede sensitivitesi yüksek bir metot olduğu göze çarpmakta iken 5 mm ve altındaki lezyonlarda sensitivitesi düşmektedir [18].

Birçok merkezde bağırsak temizliği sonrası yapılması ve radyasyon maruziyetine neden olması dezavantajlarıdır. Patolojik bulguların kolonoskopi ile doğrulanması ve örneklenmesi gerektiği unutulmamalıdır. Bu tetkikte, diğer tarama testlerine ek olarak ektstrakolonik patolojiler de tespit edilebilmektedir. Ekstrakolonik bulguların Amerikan Radyoloji Cemiyeti Kılavuzları doğrultusunda raporlanması ve takip edilmesi gerekmektedir [114-115].

Normal BT kolonografisi olan bireylerde kontrol incelemelerin 5 yıl aralıklarla yapılması gerektiği önerilmektedir [96].

Guaiac Bazlı Gaytada Gizli Kan Testi

Kolorektal kanserler, klinik olarak asemptomatik oldukları dönemde bile gaytada tespit edilebilecek ölçüde kan saçılmasına (shedding) neden olurlar. Büyük adenomlarda bu saçılım aralıklı olarak görülebilmesine karşın, küçük adenomlarda gaytada kan tespit edilemeyebilir. Gaytada gizli kan testleri, bu kan saçılımının tespiti ile kolorektal tümörlerin erken tanısına olanak sağlayabilmektedir. Testin pozitif olması durumunda tam kolonoskopi yapılmalıdır, negatif olması durumunda ise test yıllık olarak uygulanmaya devam edilmelidir [18].

Gaytada gizli kanın incelendiği testler arasında en sık kullanılanı, guaiac bazlı gaytada gizli kan testidir. Hemin psödoperoksidaz aktivitesine dayalı aktivite gösteren bu testin en önemli dezavantajları insan kaynaklı olmayan hem molekülleri ile verdiği reaksiyon nedeniyle sık yalancı pozitiflik gösternesini ve aralıklı kan saçılımı yapan tümörleri kaçırma ihtimalidir [18]. İnsan kaynaklı olmayan hem nedeniyle yalancı pozitiflikler görülebildiğinden özel diyet yapılması sonrası uygulanması önerilmektedir [116].

Mortalitede azalma yaptığı birden fazla randomize kontrollü çalışmada gösterilmiş bir metottur [117-118]. Bir kez test yapıldığında %50 düzeyinde olan sensitivitesinin 3 gün üst üste test yapıldığında %90'a kadar çıkabildiği unutulmamalıdır [119-120]. Bu nedenle test rutin olarak 3 ardışık örnekte uygulanmalıdır. Ortalama KRK riskine sahip bireylerde, tarama modalitesi olarak kolonoskopi kullanılıyorsa, ek olarak gayta bazlı tarama yapılması önerilmemektedir [18].

Fekal İmmünokimyasal Test (FIT)

Guaiac bazlı testin kısıtlılıkları, immünohistokimyaya dayalı yeni bir test gelişiminin önünü açmıştır. Randomize olmayan çalışmalarda guaiac bazlı testlerden daha sensitif olduğu gösterilmiş [121-122] olan bu testin uygulanması öncesi özel diyet yapılması zorunluluğu da yoktur. Fekal immünohistokimyasal test ile gaytada tespit edilen hem, yalnızca insan kaynaklı hemdir. Yılda bir kez tek gayta örneğinde yapılabilmesi de bu testi maliyet etkin yapmaktadır. Fekal

immünohistokimyasal test, günümüzde feçes bazlı taramada önerilen metot haline gelmiştir [123].

Kombine FIT-Fekal DNA Testi

Fekal immünohistokimyasal test ve anormal DNA belirteçlerini içeren kombine bir test de KKK taramasında kullanılmaktadır. Bu test ile hem gaytada gizli kan, hem de tümörden gaytaya dökülen hücrelerdeki moleküler bozukluklar (KRAS mutasyonları, aberan NDRG4 ve BMP3 metilasyonları ve ACTB) tespit edilmektedir. Fekal immünohistokimyasal teste kıyasla, KKK ve ileri lezyonlar için daha yüksek sensitivite ve daha düşük spesifitesi olduğu gösterilmiştir [124]. Fekal immünohistokimyasal teste kıyasla daha pahalı olması önemli bir dezavantaj olarak görülmektedir. Takip aralıkları konusundaki veriler kısıtlı olsa da kılavuzlar, 3 yılda bir test yapılmasının uygun olacağını belirtmektedir [18, 96].

Mikrobiyom Bazlı Kolorektal Kanser Taraması

Kolorektal kanser tarama testlerine yaklaşımın değerlendirildiği çalışmalarda; erişkinlerin %50-60'ının non-invaziv metotlarla KKK taramasını tercih ettiği görülmektedir [125-126]. Günümüzde kullanılan non-invaziv tarama testlerinin eksiklikleri göz önünde bulundurulduğunda, yeni non-invaziv KKK tarama testlerine ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

Mikrobiyomun kolorektal kanserdeki yeri ile ilgili bilgiler arttıkça, kolorektal kanser tanısında mikrobiyom bazlı testlerle tarama yapılması hedefi birçok araştırmaya konu olmaktadır. Bu konuda Zackular ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada; klinik ve fekal mikrobiyolojik veriler ile bir model geliştirilmiştir. Irk ve yaşın yanında *Bacteroides*, *Clostridiales*, *Clostridium* ve *Lachnospiracae*'nin rölatif artışının kullanıldığı bir model ile %90 sensitivite ve %80 spesifite ile adenom varlığı tespit edilmiştir. Yaş, cinsiyet, beden kitle endeksi yanında *Fusobacterium*, *Lachnospiracae*, *Porphyromonas*, *Porphyromonodaceae*, *Bacteroides* ve *Enterobacteriaceae*'nin kullanıldığı bir model ile sağlıklı popülasyon ve KKK hastaları %90 sensitivite ve %83,3 spesifite ile ayrılmıştır [127].

Amiot ve ark. tarafından 2014 yılında Fransa'dan yayınlanan bir çalışmada; fekal metile Wif-1 geni ve fekal guaiac gizli kan testi karşılaştırılmıştır. İdrar veya serum metile Wif-1 geninin, gaytada gizli kan testinden daha sentitif olduğu gösterilmiştir. Analizlerde KRK grubunda *Bacteroides* ve *Provatella* yoğunluğunun daha fazla olduğu gösterilmesine karşın mikrobiyom yapısındaki sapmaların (disbiyozis) değerlendirmesinin gaytada gizli kan ve/veya metile Wif-1 genine eklenmesi ile test performansında bir iyileşme kaydedilememiştir [128]. Yine 2014 yılında yapılan fekal örneklerin metagenomik analizinin gaytada gizli kan ölçümleri ile karşılaştırıldığı bir araştırmada, metagenomik analiz ve gizli kan ölçümlerinin sensitivitesi eşdeğer bulunmuştur [129].

Amitay ve ark. tarafından 2017 yılında yayınlanan bir araştırmada, 500 denekten alınan gayta örneklerinde yapılan 16S rRNA analizinde, gaytada *Fn* artışı KRK ile ciddi oranda ilişkili bulunmuş ($p<0,0001$) ancak ilerlemiş ve ilerlememiş adenomatöz lezyonlarda *Fn* artışı izlenmemiştir. Toplum temelli bir tarama kohortunda öncül lezyonlarda *Fn* artışının gösterilememesi, *Fn*'nin KRK taramasındaki kullanışlılığını sorgulatan bir veri olmuştur [52].

Mikrobiyom bazlı taramaların, feçes bazlı taramalarda olduğu gibi, pozitiflik halinde invaziv endoskopik yöntemlere ihtiyaç duyulması, tümör lokalizasyonu hakkında bilgi verememesi gibi hipotetik dezavantajları olacağı unutulmamalıdır. Ancak non-invaziv olmamalarının hasta uyumunu arttırabilecek olması bir avantaj olarak görülmektedir. Amitay ve ark. tarafından yapılan araştırma dışındaki araştırmalar, vaka kontrol çalışmaları şeklinde olup bir tarama kohortunda yapılmamıştır [52]. Mikrobiyom bazlı taramaların günlük pratikteki yerinin değerlendirilmesi için toplum tabanlı geniş çalışmalara ihtiyaç vardır. Geniş kapsamlı ve uzun takip süreli araştırmalar ile mikrobiyom bazlı taramalarda kullanılabilecek belirteçlerin performanslarının ve sağkalım üzerine etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

2.5. Kolorektal Kanser Tanısı

Kolorektal kanser, genellikle son derece sinsi şekilde gelişmektedir. Hastanın semptomlarla başvurması veya tarama programları ile hastalığın tanınması

ile tanı alabilir. Asemptomatik hastalarda demir eksikliği anemisi bulunması da bir hastalık prezentasyonu olabilir. Erken tümörlerin sıklıkla asemptomatik olması veya özgül olmayan semptomlara neden olması nedeniyle kolorektal kanserlerin tarama programları aracılığıyla erken tanınmasına öncelik verilmesi gerekmektedir.

Kolorektal kanser semptomları, lümene veya diğer organlara tümörün büyümesi ve yayılımı ile ilişkilidir. Semptomatik hastalarda, kanama epizodları (hematokezya, melen), bağırsak disfonksiyonu (konstipasyon ve diyare) ve müphem karın ağrıları görülebilir. Kilo kaybı genellikle ileri hastalıkta görülmesine karşın, halsizlik ve güçsüzlük erken evrelerde sık görülmektedir. Okült koroner hastalığı olan yaşlı hastalarda, aneminin ciddi olması halinde kardiyak iskemi semptomları ve senkop izlenebilir.

Yorgunluk ve demir eksikliği anemisi, sağ kolon tümör tümörlerinde daha belirgindir. Parlak kırmızı renkli kan, konstipasyon ve krampların varlığı ise sol taraflı lezyonları düşündürmektedir. Akut karınla gelen hastalarda kolonda kitleye sekonder perforasyon da akılda tutulması gereken tablolardan biridir [5, 130].

Kolorektal kanser tanısı konanların yaklaşık %20'sinde tanı anında metastaz saptanmaktadır [131]. Bölgesel lenf nodları, karaciğer, akciğer ve periton en sık metastatik bölgelerdir. İlerlemiş lezyonlarda komşu organlara invazyona ilişkin bulgular bulunabilir.

Kolonoskopi, en güvenilir tanı yöntemidir. Direkt görüntüleme, tümör lokalizasyonunun belirlenmesi ve histolojik tanı için örneklemeye olanak sağlamaktadır. Endoskopik tanı sonrası bilgisayarlı tomografi, karaciğer manyetik rezonans görüntülemesi ve pozitron emisyon tomografisinin yardımı ile uzak metastaz değerlendirmesi genellikle yapılmaktadır [5, 130]. Evreleme, lokal invazyon, lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz varlığı değerlendirilerek AJCC (American Joint Committee on Cancer) kriterlerine göre yapılmaktadır [132] (Tablo 2.1). Dukes ve Modifiye Astler-Coller de kullanılan diğer sınıflandırmalardır [108] .

Kolorektal kanser tanısında rutin laboratuvar tetkiklerinin yeri yoktur. Birçok tümör belirteci, özellikle karsinoembriyonik antijen (CEA) kolorektal kanser ile

ilişkili bulunmuştur. Benign durumlarda da yükselmeleri ve sensitiviteilerinin düşük olması nedeniyle, KRK'de tümör belirteçleri tanıda kullanılmamaktadır. Yapılan bir meta-analizde, kullanılan tümör markerlarının sensitivitesi %50'den daha az saptanmıştır [133]. CEA, KRK'de takipte ve prognozu değerlendirmede kullanılabilir [134].

Tablo 2.1. Kolorektal kanser evrelemesi (AJCC 8)

Primer Tümör-T Evresi	
Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Primer tümör bulgusu yok
Tis	Karsinoma in situ: intraepitelyal ya da lamina propria invazyonu
T1	Tümör submukozaya invaze
T2	Tümör muskularis propriaya invaze
T3	Tümör muskularis propria boyunca perikolorektal dokulara invaze
T4a	Tümör visceral periton yüzeyine nüfuz etmiştir
T4b	Tümör direkt olarak diğer organ ve yapılara invaze ya da yapışık
Bölgesel Lenf Nodları-N Evresi	
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	1-3 bölgesel lenf nodunda metastaz
N1a	Bir bölgesel lenf nodunda metastaz
N1b	2-3 bölgesel lenf nodunda metastaz
N1c	Bölgesel lenf nodu metastazı olmadan subseroza, mezenter ya da peritonsuz perikolik veya perirektal dokuda tümör depozit(ler)i
N2	4 ya da daha fazla bölgesel lenf nodunda metastaz
N2a	4-6 bölgesel lenf nodunda metastaz
N2b	7 ya da daha fazla bölgesel lenf nodunda metastaz
Uzak Metastaz-M Evresi	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz
M1a	Metastaz tek bir organ ya da bölgeye sınırlıdır (örneğin; karaciğer, akciğer, over, bölgesel olmayan nod)
M1b	Periton metastazı olmadan birden fazla organ/bölge metastaz
M1c	Peritoneal yüzeyde metastaz (Tek başına veya ek bir bölge veya organ metastazı ile)

Tablo 2.1. (Devam) Kolorektal kanser evrelemesi (AJCC 8)

Anatomik Evre/Prognostik Gruplar					
Evre	T	N	M	Dukes*	MAC*
0	Tis	N0	M0	-	-
I	T1	N0	M0	A	A
	T2	N0	M0	A	B1
IIA	T3	N0	M0	B	B2
IIB	T4a	N0	M0	B	B2
IIC	T4b	N0	M0	B	B3
IIIA	T1-T2	N1	M0	C	C1
	T1	N2a	M0	C	C1
IIIB	T3-T4a	N1	M0	C	C2
	T2-T3	N2a	M0	C	C1/C2
	T1-T2	N2b	M0	C	C1
IIIC	T4a	N2a	M0	C	C2
	T3-T4a	N2b	M0	C	C2
	T4b	N1-N2	M0	C	C3
IVA	Herhangi T	Herhangi N	M1a	D	D
IVB	Herhangi T	Herhangi N	M1b	D	D
IVC	Herhangi T	Herhangi N	M1c	D	D

AJCC: American Joint Committee on Cancer, **MAC:** Modifiye Astler-Coller

Sağ ve Sol Kolon Tümörleri

Kolon embriyolojik olarak orta bağırsak (midgut) ve arka bağırsak (hindgut)'tan gelişmiş olup bu nedenle sağ ve sol kolon farklı anatomik ve fizyolojik özelliklere sahiptir. Günümüzde sol kolon tümörleri daha sık görülse de sağ kolon tümörlerinin KRK içindeki oranı yıllar içinde artmaktadır [135]. Geleneksel olarak splenik fleksura proksimalindeki kolon kanserleri sağ kolon tümörleri, splenik fleksuranın distalindeki kolon kanserleri ise sol kolon tümörleri olarak adlandırılmaktadır. Sağ ve sol kolon tümörlerinin epidemiyolojik ve histolojik farkları incelencek olursa; sağ kolon tümörü olan hastaların sıklıkla kadın ve ileri yaş hastalar olduğu, müsinöz, farklılaşmamış veya taşlı yüzük hücreli tümör morfolojisinde tümörleri olduğu görülecektir [136]. Sağ kolon tümörleri sıklıkla

peritonal yayılım gösterirken, sol kolon tümörlerinde toraks ve kemik metastazı daha sık izlenmektedir [137].

Sağ ve sol kolon tümörleri ayrımının tedavi seçimine katkıları ve bu iki grup arasındaki moleküler ve prognostik farklar birçok araştırmaya konu olmaktadır. Tümör lokalizasyonuna göre genel sağkalımın incelendiği 15 araştırmanın dahil edildiği bir meta-analizde sağ kolon tümörlerinin sol kolon tümörlerine göre daha kötü prognozlu olduğu rapor edilmiştir [138]. Petrelli ve ark. tarafından 2016 yılında yayınlanan bir meta-analizde, 66 araştırmadan 1.437.846 hastanın verileri incelenmiş ve sol kolon tümörlerinde mortalite riskinin sağ kolon tümörlerine kıyasla %18 daha az olduğu bildirilmiştir [139]. Kanada'dan 2017 yılında yayınlanan, 1992-2010 yılları arasında metastatik KRK tanısı almış 1947 hastanın tümör lokalizasyonuna göre karşılaştırıldığı bir araştırmada; ortalama sağkalım sağ kolon tümörlerinde 14 ay, sol kolon tümörlerinde ise 20,5 ay olarak bulunmuş olup lokalizasyon çok değişkenli analizlerde de prognozda etkili faktörlerden biri olmuştur. Araştırmada sağ taraflı tümörlerde %40 mortalite artışı olduğu belirtilmiştir [140].

Hedefe yönelik ajanlarla yapılan araştırmalarda, tümör lokalizasyonuna göre sağkalım farklılıkları bildirilmektedir. Boisen ve ark. tarafından bir araştırmada, bevacizumab ve oksaliptin bazlı kemoterapi ile genel sağkalım sol kolon tümörlerinde 23,5 ay iken sağ kolon tümörlerinde 13 ay olarak rapor edilmiştir [141]. CRYSTAL (FOLFIRI plus cetuximab in the Cetuximab Combined With Irinotecan in First-line Therapy for Metastatic Colorectal Cancer) ve FIRE-3 (FOLFIRI Plus Cetuximab Versus FOLFIRI Plus Bevacizumab as First-Line Treatment For Patients With Metastatic Colorectal Cancer) araştırmalarındaki verilerin retrospektif olarak incelenmesinde FOLFIRI kemoterapisine cetuximab eklenmesi ile sol kolon tümörlerinde sağkalım avantajı belirginken, sağ kolon tümörlerinde standart tedaviye kıyasla belirgin sağkalım farkı gösterilememiştir [142]. Meta-analizlerde de anti-EGFR (epidermal büyüme faktörü reseptörü) monoklonal antikorları ile tedavide sol kolon tümörlerinde genel sağkalımın sağ kolon tümörlerine göre daha iyi olduğu bildirilmiştir [143].

Sağ ve sol kolon tümörleri arasında, moleküler farklılıklar da araştırmalara konu olmuştur. Kromozomal instabilite varlığı, sol kolon gelişiminde öne çıkmaktadır [135]. Kromozomal instabilite göstergelerinden biri olan p53 mutasyonunun sol kolon tümörlerinde daha fazla izlendiği birden fazla araştırmada gösterilmiştir [144-145]. DNA yanlış eşleşme onarım (mismatch repair) genlerindeki değişikliklerin bir sonucu olan MSI kolon kanserindeki önemli karsinogenez mekanizmalarından biridir. Sporadik KRK'de %12 ile %20 oranlarında görüldüğü bildirilmiştir. Shin ve ark. tarafından 245 evre 2 ve 3 KRK hastasının değerlendirildiği bir araştırmada MSI pozitif kanserlerin sağ kolonda daha sık olduğu gösterilmiştir [146]. Evre 3 kolon kanserlerinin incelendiği N0147 çalışmasında, sağ kolon tümörlerinin %21'inde, sol kolon tümörlerinin ise %2,8'inde MSI gösterilmiştir [147]. Sağ kolon tümörlerinde sık bir fenotip olan mikrosatellit instabilitesi, mikrosatellit stabl kanserlere kıyasla daha iyi sağkalımla ilişkilidir [135].

Bu farklılıklar yanında, iki grup arasında moleküler düzeyde birçok farklılık mevcuttur (Tablo 2.2) [135-136].

Tablo 2.2. Sağ ve sol kolorektal kanser temel farklılıkları.

	Sağ Kolon	Sol Kolon
Embriyolojik Köken	Orta bağırsak	Arka bağırsak
Moleküler Bozukluklar	MSI, KRAS, BRAF mutasyonu sık	NRAS, p53 mutasyonu sık
Öncü Lezyon	Sesil serrate adenom	Tübüler adenom
Prognoz	Prognoz kötü	Prognoz iyi
Tedavi Seçimi	Cetuximab ile daha kötü prognoz	Cetuximab ile daha iyi prognoz

MSI: Mikrosatellit instabilitesi

2.6. Kolorektal Kanser Tedavisi

Cerrahi

Lokalize kolon kanserlerinde küratif tedavi, cerrahi rezeksiyondur. Rezeksiyon ile tümör dokusu ve lenfatiklerin çıkarılması hedeflenir. Lokalize

hastalık yanında, rezektabl lokal ileri veya metastatik hastalığı olan seçilmiş vakalarda primer tümör ve metastatik bölge için agresif cerrahi yapılabilir. Rezeksiyon yapılamayan metastatik hastalık varlığında, yalnızca tümöre bağlı şiddetli semptom ve lokal komplikasyonlar varlığında cerrahi yapılabilir (perforasyon, obstrüksiyon gibi). Günümüzde cerrahi tekniğin gelişmesiyle, kolorektal kanser cerrahisinde laparoskopik kolektomi bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Laparoskopik ve açık kolektomiyle, 5 yıllık rekürrens ve sağkalım oranları benzer görünmektedir [5].

Kemoterapi

Kolorektal kanser için başarılı cerrahi yapılan hastaların %50 ile %60'ında rezidüel mikrometastatik hastalık olduğu bilinmektedir. Adjuvan kemoterapinin hedefi, olası rezidüel mikrometastatik hastalığın eradike edilmesidir. Evre 1 kolon kanserinde kemoterapi önerilmemekte olup cerrahi rezeksiyon yeterlidir. Evre 2 kolon kanserinde; yüksek risk faktörleri (T4 tümör, cerrahi ile çıkarılan lenf nodu sayısının 12'den az olması, kötü diferensiye tümör, perforasyon, obstrüksiyon, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon) varlığında kemoterapi önerilmektedir [148]. Evre 3 tümörlerde ise adjuvan kemoterapi ile mortalite ve nüks riskinde azalma net bir şekilde gösterilmiştir [5]. Kemoterapi şemalarında genellikle fluorourasil ve oksaliplatin kullanılır.

Kolorektal kanserde metastatik hastalığın primer tedavisi kemoterapidir. Karaciğer metastazı olan hastalar başta olmak üzere, metastatik hastalığı olan tüm hastaların metastazektomi açısından değerlendirilmesi önerilmektedir. Metastatik kolon kanserinde konvansiyonel kemoterapiye ek olarak, RAS mutasyonu durumuna göre, anti-EGFR monoklonal antikörleri olan setuksimab veya panitumumab veya anti-VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) monoklonal antikör olan bevacizumab eklenebilmektedir. Yeni bir oral tirozin kinaz inhibitörü olan regorafenib de progresif metastatik KKK hastalarında kullanılabilmektedir [108].

3. MATERYAL-METOT

3.1. Örnekler ve Verilerin Toplanması

Bu çalışma 01.09.2016-30.09.2017 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Medikal Onkoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çalışmaya 18 yaşın üzerinde ve kolorektal kanser tanısı olan, henüz tedavisi başlanmamış 71 hasta ve 77 kontrol alındı. Opere olan, kemoterapi ya da radyoterapisi başlanmış olan hastalar, acil cerrahi müdahale gerektirecek perforasyon ve/veya obstrüksiyon ile başvuran hastalar ve son 4 hafta içinde antibiyotik kullanımı olanlar çalışmaya alınmadı. Kolorektal kanserin 50 yaşından sonra daha sık görülmesi nedeniyle kontrol grubuna 50 yaş üzerindeki hastalar alındı. Kontrol grubunda da son 4 hafta içinde antibiyotik kullanımı olan bireyler çalışmaya dahil edilmedi. Özgeçmişinde kanser öyküsü olan ve/veya inflamatuvar bağırsak hastalığı olan bireyler kontrol grubuna alınmadı.

Katılımcılardan aydınlatılmış onam alındı. Hastaların isim-soyisim, yaş, cinsiyet, tümör evresi, tümör lokalizasyonu ve tümörde MSI varlığı hasta dosyalarından elde edilerek kaydedildi. Kontrol grubunda ise çalışmaya dahil edilme kriterlerinin taşındığı kontrol edildikten sonra kontrollerin isim-soyisim, yaş ve cinsiyetleri kaydedildi.

Hasta ve kontrollerden 50 ml'lik santrifüj tüplerine 5 ml tükürük örneği alınarak, örnekler buz aküsü ile ivedilikle mikrobiyoloji laboratuvarına iletili. Örnekler PCR incelemesi yapılana kadar -20 C derecede dondurularak saklandı.

3.2. Real-time PCR yöntemi

Çalışma örnekleri toplandıktan sonra, "GeneMATRIX Swab-Extract DNA Purification Kit" (Gdansk, Polonya) ile üretici talimatlarına uygun olarak DNA izolasyonu yapıldı. Protokole göre izolasyon işlemi oda sıcaklığında ve (15-29°C) ve santrifüj süreçleri 12.000g (gravity)'de gerçekleştirildi. İzolasyon işlemi aşağıda belirtilen protokole göre gerçekleştirildi.

1. DNA'nın bağlanacağı spin kolonun aktivasyonu için 30 µl "Tampon S" uygulandı ve spin-kolona örnek eklenene kadar oda sıcaklığında muhafaza edildi.
2. İki yüz mikrolitre (µl) tükürük örneği otomatik pipet ile 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı.
3. Dört yüz µl "Lyse S" tamponu ve 12 µl "Proteinase K" eklendi.
4. Tüp birkaç kez ters çevrilerek karıştırıldı ve 56°C'de 30 dakika inkübe edildi. Tüp 10 dakikada bir ters çevrilmeye devam edildi.
5. Dört yüz µl "Sol S" tamponu eklendikten sonra tüp birkaç kez ters çevrilerek karışımın homojenizasyonu sağlandı.
6. Elde edilen karışım 70°C' de 10 dakika inkübe edildi.
7. Karışıma 200 µl etanol (%96-100) eklendi ve tüp birkaç kez ters çevrilerek karıştırıldı.
8. Mikrosantrifüj tüpü 12000g'de 2 dakika boyunca santrifüjlendi.
9. Altı yüz µl lizat DNA'nın bağlanacağı spin kolona aktarılaraq 11000g'de 30 saniye santrifüj edildi. Daha sonra spin kolon çıkartıldı, süzülen süpernatant alttaki toplama tüpünden boşaltıldıktan sonra kolon toplama tüpüne tekrar yerleştirildi.
10. Kalan karışım, spin-kolona aktarılıp 11000g'de 1 dakika santrifüjlendi. Spin kolon çıkarılıp süpernatant boşaltıldıktan sonra, toplama tüpüne tekrar yerleştirildi.
11. Yıkama işlemi için ilk olarak spin kolona 500 µl "Wash SX1" tamponu eklenerek 11000g'de 1 dakika santrifüjlendi.
12. Spin kolon çıkarılıp süzüntü döküldükten sonra kolon toplama tüpüne tekrar yerleştirildi.
13. İkinci yıkama için spin kolona 500 µl "Wash SX2" tamponu eklenerek 11000g'de 1 dakika santrifüjlendi.
14. "Wash SX2" tamponunu tamamen uzaklaştırmak için kolon bir kere daha 11000g'de 1 dakika santrifüj edildi.
15. Spin kolon altındaki toplama tüpü atıldı. Kolon steril 2 ml yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi. Bağlanmış olan DNA'yı kolondan sökmek için 100 µl "Elution buffer" eklendi.

16. Spin kolon oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi.
17. Spin kolon 11000g'de 1 dakika santrifüjlendi.
18. Spin kolon atılıp, DNA'nın aktarıldığı toplama tüpü kapatıldı. Elde edilen DNA, real-time PCR işlemine kadar -20°C'de saklandı.

Real-time PCR metodu için kullanılan primer ve prob lar tablo 3.2.1 ve 3.2.2'de gösterildi. Her karışımın total hacmi 20 µl (mikrolitre) olacak şekilde ayarlandı. Çalışmada her uygulama için 10⁸ CFU/mL (colony forming unit/ml) bakteri kültüründen 6 adet 1:10 seri dilüsyon yapılarak 3 hedef etken bakteri için standart örnekler hazırlanarak DNA izolasyon işlemi gerçekleştirildi. Real time PCR çalışmalarında ise her uygulama için 10⁷, 10⁶, 10⁵, 10⁴ ve 10³ olmak üzere 5 adet standart örnek kullanıldı.

Tablo 3.2.1. “Real-time PCR”da kullanılan primer dizileri

	Primer Setleri	Bç	Hedef
Total	5'-CGCTAGTAATCGTGGATCAGAATG-3' 5'-TGTGACGGGCGGTGTGTA-3'	69	16S rDNA
Fn	5'-TGCGATAAGCCTAGATAAGTTGCA-3' 5'-CTTAATAGATTGCTCCATTCGGAAA-3'	70	16S rDNA
Pg	5'-TGGTTTCATGCAGCTTCTTT-3' 5'-TCGGCACCTTCGTAATTCTT-3'	126	waaA
Sg	5'-TAATAACGGTGGTGGGCATT-3' 5'-GAATTTCGTCAAATGAGCCAAA-3'	111	recN

Bç: Hedef bölge baz çifti, **Total:** Total bakteri yükü saptanmasında kullanılan primer seti, **Fn:** *Fusobacterium nucleatum*, **Pg:** *Porphyromonas gingivalis*, **Sg:** *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus*

Tablo 3.2.2. “Real-time PCR”da kullanılan prob dizileri

	Prob
Total	5'-FAM-CACGGTGAATACGTTCCCGGGC-BHQ1-3'
Fn	5'-FAM-CCTAGACTCTTACGTTCGA-MGB-3'
Pg	5'-FAM/CGTACCTCA/ZEN/TATCCCGAGGGGCTG/BHQ1-3'
Sg	5'-FAM-CCAACAGCGCAAGTGTTGGCTG-BHQ1-3'

Total: Total bakteri yükü saptanmasında kullanılan prob, **Fn:** *Fusobacterium nucleatum*, **Pg:** *Porphyromonas gingivalis*, **Sg:** *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus*, **FAM, BHQ1 ve ZEN:** Floresan işaretleyiciler

Real-time PCR işlemi, **Applied Biosystems-ABI 7500 (Amerika Birleşik Devletleri)** cihazında gerçekleştirildi. Doksan altılık plate'de her kuyucuğa 18 µl PCR karışımı (Tablo 3.2.3), 2 µl bakteri DNA'sı dağıtıldı. Standart örnekleri dahil

bütün örnekler aynı teknikle 2 kez çalışıldı. Polimerase chain reaction (PCR) karışımının hazırlanması ve kuyucuklara dağıtılması işlemleri soğuk blokta gerçekleştirildi.

Tablo 3.2.3. “Real-time PCR” karışımı

Bileşen Adı	Stok Konsantrasyonu	Reaksiyon Konsantrasyonu	Bir Reaksiyon İçin Kullanılan Miktar
qPCR 5xProbeMix (SolisBiodyne)	5X	1X	4.0 µl
Primer-F (Metabion)	10 µM	0,3 µM	0.6 µl
Primer-R (Metabion)	10 µM	0,3 µM	0.6 µl
Probe (Metabion)	10 µM	0,3 µM	0.6 µl
DNA template			2 µl
H2O			12.20 µl

Applied Biosystems-ABI 7500 cihazında sıcaklık döngüleri şu şekilde ayarlandı (Tablo 3.2.4):

Tablo 3.2.4. “Real-time PCR” sıcaklık döngüleri

Sıcaklık	Süre	Döngü
95°C	15 dk.	1
95°C	15 sn.	40
60°C	1 dk.	

TaqMan problemlerinin kullanıldığı “real-time PCR” işlemi tamamlandıktan sonra, örneklerin erime eğrisi analizi yapıldı. Erime eğrisi analizi, “Applied Biosystems-ABI 7500 v2.3” yazılımında yapıldı.

Bakteri kantitasyonlarının raporlanmasında birim olarak log10 kopya/ml (mililitre) kullanıldı.

3.3. İstatistiksel Analiz

Araştırmanın analizlerinde, Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 20 programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunlukları, Kolmogorov Smirnov ve Shapiro-Wilk analiz testi ve histogramlar ile değerlendirildi. Normal dağılan değişkenler ortalama ve standart sapma (ss) ile normal dağılmayan değişkenler ise ortanca (medyan) ve minimum-maksimum değerleri ile ifade edildi. Hasta ve kontrol grubundaki bakterilerin saptanma durumu ki-kare testi ile hasta ve kontrol grubunda bakteri miktarlarının karşılaştırılması bağımsız örneklem t testi ile analiz edildi. Tümör lokalizasyonu ve MSI varlığı ile bakteri saptanma oranlarının karşılaştırılması ki-kare testi ile analiz edilirken, ilgili gruplarda bakteri miktarlarının karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Evrelere göre bakterilerin varlığının ve miktarlarının karşılaştırılmasında ki-kare ve Kruskal-Wallis yöntemi kullanıldı. Tüm testlerde 0,05'in altındaki p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tükürükte *Fn*, *Pg* ve *Sg* miktarının kolorektal kanseri öngörmede tanısal karar verdirici özellikleri Receiver Operating Characteristics (ROC) eğrisi analizi ile incelendi. Anlamlı sınır değerlerinin varlığında; bu sınırların sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif prediktif değerleri hesaplandı. Eğri altında kalan alanın değerlendirilmesinde, Tip-1 hata düzeyinin %5'in altında olduğu durumlar testin tanısal değerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu şeklinde yorumlandı.

3.4. Etik Kurul Onayı

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan etik kurul onayı alındı (Tarih: 13.07.2016 karar no: GO 16/434-19). Projede kullanılacak kitlerin temini için Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine hızlı destek projesi desteği için başvuruldu. İlgili biriminin 26.01.2017 tarihli kararı ile proje onaylanıp yürürlüğe girdi (Proje No: THD-2017-12288).

4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

Yetmiş bir hasta ve yetmiş yedi kontrol analizlere dahil edildi. Hasta grubunun 25'i (%35,2) kadın, 46'sı (%64,8) erkekti. Kontrol grubunun ise 40'ı (%51,9) kadın, 37'si (%48,1) erkekti. Hasta grubunun ortalama yaşı 59 (21-84) olup, kontrol grubunun ortalama yaşı 56 (50-74) olarak hesaplandı (Tablo 4.1). Hasta ve kontrol gruplarının ortalama yaşlarının benzer olduğu görüldü ($p=0,146$).

Tablo 4.1. Demografik veriler

	Hasta	Kontrol	Toplam
Sayı n (%)	71 (%48)	77 (%52)	148 (%100)
Cinsiyet			
Kadın n (%)	25 (%35,2)	40 (%51,9)	65 (%43,9)
Erkek n (%)	46 (%64,8)	37 (%48,1)	83 (%56,1)
Yaş	59 (21-84)	56 (50-74)	$p= 0,146$

4.2. Tümör özellikleri

Hasta grubunun tümör özellikleri incelendiğinde 62 hastada (%87,3) alt tip belirtilmeyen adenokarsinom, 8 hastada (%11,3) müsinöz adenokarsinom, 1 hastada (%1,4) ise berrak hücreli tümör olduğu görüldü. On altı hastada (%22,5) sağ kolon tümörü görülürken, 55 hastada (%77,5) sol kolon tümörü olduğu görüldü. Elli bir hastada tümörde MSI durumu değerlendirilmişti. Bu 51 hastanın 43 tanesinde (%84,3) MSI negatif, 8 hastada (%15,7) ise MSI pozitif KRK olduğu görüldü (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Tümör özellikleri

Histoloji	n (%)
Adenokarsinom (alt tip belirtilmemiş)	62 (%87,3)
Müsinöz adenokarsinom	8 (%11,3)
Diğer	1 (%1,4)
Grad	
İyi diferansiye	7 (%9,9)
Orta diferansiye	17 (%23,9)
Kötü diferansiye	2 (%2,8)
Belirtilmemiş	45 (%63,4)
Evre	
I	4 (%5,6)
II	16 (%22,5)
III	24 (%33,8)
IV	27 (%38)
Lokalizasyon	
Sağ	16 (%22,5)
Sol	55 (%77,5)
MSİ Durumu	
Pozitif (+)	8 (%15,7)
Negatif (-)	43 (%84,3)

MSİ: Mikrosatellit instabilitesi

4.3. Mikrobiyolojik İnceleme Sonuçları

Hasta ve kontrol gruplarında total bakteri miktarlarının karşılaştırılmasında, gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı ($p=0,549$). Hasta grubunda ortalama total bakteri miktarının $7,51\pm0,50$ log10 kopya/ml, kontrol grubunda ise $7,45\pm0,62$ log10 kopya/ml olduğu görüldü (Tablo 4.3.1) .

Tablo 4.3.1. Hasta ve kontrol gruplarında total bakteri miktarının değerlendirilmesi

	Hasta (n=71)	Kontrol (n=77)	p
Total Bakteri (log10 kopya/ml) (ortalama$\pm$ss)	$7,51\pm0,50$	$7,45\pm0,62$	0,549

Fusobacterium nucleatum hasta grubunda 71 örneğin 69'unda saptanırken, kontrol grubunda 77 örneğin 74'ünde saptandı. İki grupta, *Fn* saptanma oranları benzerdi ($p>0,99$). *Fusobacterium nucleatum* miktarları karşılaştırıldığında ise;

hastalarda tükürük örneklerinde *Fn* miktarının, kontrol grubundan yüksek olduğu görüldü ($p=0,001$) (Tablo 4.3.2).

Tablo 4.3.2. Hasta ve kontrol gruplarında *Fusobacterium nucleatum* varlığının ve miktarının değerlendirilmesi

	Hasta (n=71)	Kontrol (n=77)	p
<i>Fn</i> (+) n (%)	69 (%97,2)	74 (%96,1)	>0,99
<i>Fn</i> miktarı (log10 kopya/ml) (ortalama± ss)	6,89±1,07	6,35±0,78	0,001

Fn: *Fusobacterium nucleatum*

Streptococcus gallolyticus subspecies galloyticus, hasta grubunda 71 örneğin 22'sinde (%31), kontrol grubunda ise 77 örneğin 21'inde (%27,3) saptandı. İki grupta *Sg* saptanma oranları benzerdi ($p=0,619$). *Streptococcus gallolyticus subspecies galloyticus* miktarının, hasta grubunda kontrollere kıyasla daha yüksek olduğu görüldü ($p<0,001$) (Tablo 4.3.3).

Tablo 4.3.3. Hasta ve kontrol gruplarında *Streptococcus gallolyticus subspecies galloyticus* varlığının ve miktarının değerlendirilmesi

	Hasta (n=71)	Kontrol (n=77)	p
<i>Sg</i> (+) n (%)	22 (%31)	21 (%27,3)	0,619
<i>Sg</i> miktarı (log10 kopya/ml) (ortalama±ss)	4,12±0,99	3,15±0,58	<0,001

Sg: *Streptococcus gallolyticus subspecies galloyticus*

Örneklerin *Porphyromonas gingivalis* açısından değerlendirmesinde; hasta grubunda 71 hastanın 54'ünde (%76,1), kontrol grubunda 77 hastanın 58'inde (%75,3) *Pg* saptandı. İki grupta *Pg* saptanma oranları benzerdi ($p=0,917$). Analizlerde iki grupta *Pg* miktarı benzer bulundu ($p=0,837$) (Tablo 4.3.4).

Tablo 4.3.4. Hasta ve kontrol gruplarında *Porphyromonas gingivalis* varlığının ve miktarının değerlendirilmesi

	Hasta (n=71)	Kontrol (n=77)	p
Pg (+) n (%)	54 (%76,1)	58 (%75,3)	0,917
Pg miktarı (log10 kopya/ml) (ortalama±ss)	4,28±1,72	4,22±1,24	0,837

Pg: *Porphyromonas gingivalis*

Araştırmada, mikrosatellit instabilitesi değerlendirilmiş olan 51 hasta için ek analizler yapıldı. Bu analizlerde MSİ pozitif (n=8) ve negatif (n=43) gruplar arasında *Fn*, *Sg* ve *Pg* saptanma oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla *Fn* için $p>0,99$, *Sg* için $p=0,668$ ve *Pg* için $p=0,346$). Kantitatif değerlendirmede, MSİ (+) olan grupta *Fn* ve *Sg* miktarının MSİ (-) gruba göre anlamlı derecede daha düşük olduğu görüldü. Total bakteri ve *Pg* miktarı ise MSİ (+) ve (-) grupta benzerdi (Tablo 4.3.5).

Tablo 4.3.5. Mikrosatellit instabilitesi pozitif ve negatif tümörlerde *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* ve *Porphyromonas gingivalis* varlığı ve miktarının değerlendirilmesi

	MSİ Negatif (n=43)	MSİ Pozitif (n=8)	p
Fn n (%)	42 (%97,7)	8 (%100)	>0,99
Fn miktarı (log10 kopya/ml) (ortanca, min-maks.)	7,03 (5,18-8,97)	6,15 (4,35-7,96)	0,036
Sg (+) n (%)	11 (%25,6)	3 (%37,5)	0,668
Sg miktarı (log10 kopya/ml) (ortanca, min-maks.)	4,13 (3,48-7,44)	3,44 (3,18-3,92)	0,022
Pg (+) n (%)	35 (%81,4)	5 (%62,5)	0,346
Pg miktarı (log10 kopya/ml) (ortanca, min-maks.)	4 (1,92-8,24)	3,04 (2,02-6,35)	0,337
Total Bakteri (log10 kopya/ml) (ortanca, min-maks.)	7,43 (5,75-8,21)	7,57 (7,02-8,16)	0,313

MSİ: Mikrosatellit instabilitesi, **Fn:** *Fusobacterium nucleatum*, **Sg:** *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus*, **Pg:** *Porphyromonas gingivalis*

Hasta grubunda, sağ kolon ve sol kolon tümörlerinin karşılaştırılmasında; *Fn*, *Pg* ve *Sg* bakterilerinin saptanma oranları benzerdi (Sırasıyla *Fn* için %93,8 vs %98,2 $p=0,402$ *Sg* için %18,8 vs %34,5 $p=0,358$ *Pg* için %81,3 vs %74,5 $p=0,745$). Üç bakterinin miktarları ve total bakteri miktarı da sağ ve sol kolon tümörleri arasında benzer bulundu (Tablo 4.3.6).

Tablo 4.3.6. Sağ ve sol kolon tümörlerinde *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* ve *Porphyromonas gingivalis* varlığı ve miktarının değerlendirilmesi

	Sağ Kolon (n=16)	Sol Kolon (n=55)	p
<i>Fn</i> (+) n (%)	15 (%93,8)	54 (%98,2)	0,402
<i>Fn</i> miktarı (log10 kopya/ml) (ortanca, min-maks.)	6,76 (4,35-8,28)	6,85 (4,21-8,97)	0,407
<i>Sg</i> (+) n (%)	3 (%18,8)	19 (%34,5)	0,358
<i>Sg</i> miktarı (log10 kopya/ml) (ortanca, min-maks.)	3,92 (3,57-4,03)	4,07 (2,86-7,44)	0,534
<i>Pg</i> (+) n (%)	13 (%81,2)	41 (%74,5)	0,745
<i>Pg</i> miktarı (log10 kopya/ml) (ortanca, min-maks.)	4,57 (2,02-8,24)	3,70 (1,92-10,24)	0,067
Total Bakteri (log10 kopya/ml) (ortanca, min-maks.)	7,53 (7,02-8,16)	7,43 (5,75-9,40)	0,474

Fn: *Fusobacterium nucleatum*, *Sg*: *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus*,
Pg: *Porphyromonas gingivalis*

Hasta grubunda evrelere göre bakteri varlığı ve miktarının değerlendirilmesinde *Fn*, *Sg* ve *Pg* saptanma oranları farklı evrede tümörlerde benzer bulundu. *Fn*, *Pg* ve *Sg* miktarları ile total bakteri miktarı da evreler arasında benzer izlendi (Tablo 4.3.7).

Tablo 4.3.7. Evrelere göre *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus gallolyticus* subspecies *gallolyticus* ve *Porphyromonas gingivalis* varlığı ve miktarının değerlendirilmesi (Tüm birimler aksi belirtilmedikçe log10 kopya/ml’dir)

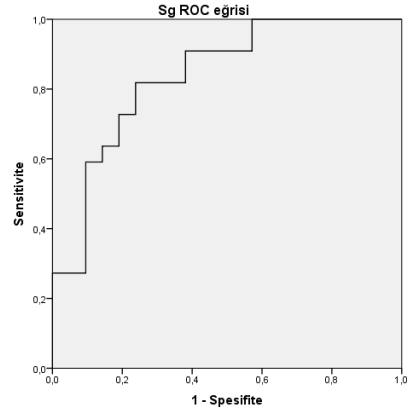
	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	p
<i>Fn</i> (+) n (%)	4 (%100)	15 (%93,8)	23 (%95,8)	27 (%100)	0,627
<i>Fn</i> miktarı (ortanca, min-maks.)	7,62 (6,80-8,61)	7,24 (4,35-8,97)	6,86 (4,21-8,94)	6,64 (5,18-8,48)	0,319
<i>Sg</i> (+) n (%)	1 (%25)	3 (%18,8)	10 (%41,7)	8 (%29,6)	0,477
<i>Sg</i> miktarı (ortanca, min-maks.)	4,07 (4,07-4,07)	4,84 (4,03-5,10)	3,97 (2,86-5,11)	3,81 (3,18-7,44)	0,396
<i>Pg</i> (+) n (%)	4 (%100)	13 (%81,2)	14 (%58,3)	23 (%85,2)	0,076
<i>Pg</i> miktarı (ortanca, min-maks.)	4,03 (3,41-5,82)	4,37 (2,23-7,09)	3,12 (1,92-8,24)	3,99 (2,13-10,24)	0,245
Total Bakteri (ortanca, min-maks.)	7,32 (6,67-7,67)	7,43 (5,75-8,21)	7,46 (6,98-8,57)	7,50 (6,87-9,40)	0,512

***Fn*:** *Fusobacterium nucleatum*, ***Sg*:** *Streptococcus gallolyticus* subspecies *gallolyticus*,

***Pg*:** *Porphyromonas gingivalis*

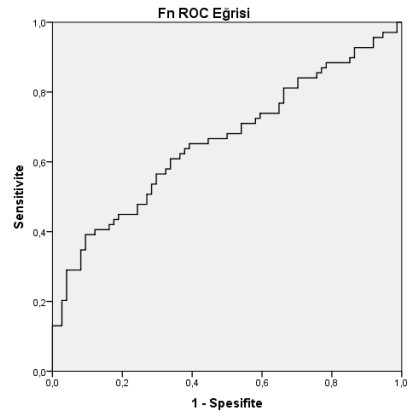
Araştırmada ayrıca tükürükte *Fn*, *Pg* ve *Sg* miktarının KRK’yi öngörmeye yönelik olarak ROC eğrisi analizleri yapıldı. Bu analizlerde *Sg* miktarının KRK’yi öngörmeye yönelik olarak ROC eğrisi olduğu görüldü [Area Under Curve (AUC): 0,84 %95 Güven Aralığı (GA): 0,72-0,96 p<0,001] (Şekil 4.3.1). Sınır değeri 3,32 log10 kopya/ml olarak belirlendiğinde, bu değerden daha yüksek *Sg* miktarının KRK için %82 duyarlılık ve %76 özgüllüğü olduğu görüldü. *Fusobacterium nucleatum* ve *Porphyromonas gingivalis* için yapılan ROC eğrisi analizleri istatistiksel açıdan anlamlı sonuç vermedi (Şekil 4.3.2 ve 4.3.3).

Şekil 4.3.1. *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* için ROC eğrisi



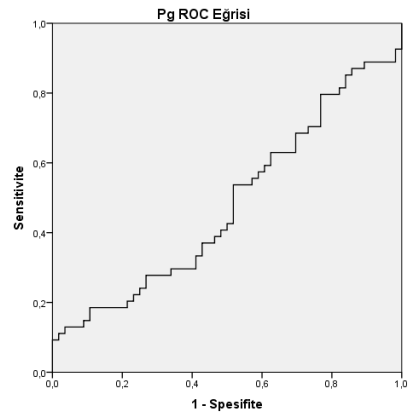
Sg: *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus*, **ROC:** Receiver Operating Characteristics

Şekil 4.3.2. *Fusobacterium nucleatum* için ROC eğrisi



Fn: *Fusobacterium nucleatum*, **ROC:** Receiver Operating Characteristics

Şekil 4.3.3. *Porphyromonas gingivalis* için ROC eğrisi



Pg: *Porphyromonas gingivalis*, **ROC:** Receiver Operating Characteristics

5. TARTIŞMA

Gastrointestinal mikrobiyom; bakteri, virüs, mantar ve arkelerden oluşan dinamik bir yapı olup GİS homeostazı ve konağın patojenlerle invazyondan korunmasında önemli rol oynamaktadır. Disbiyozis olarak adlandırılan normal mikrobiyom yapısından sapmaların, kolorektal kanser gelişimdeki rolü son yıllarda önemli bir araştırma alanıdır [67]. Disbiyozisin KRK gelişimindeki rolüne ilişkin iki farklı görüş mevcuttur. Bunlardan birincisi, çevresel etkenlerle oluşan mikrobiyom değişikliklerinin doğrudan KRK gelişimine neden olduğudur. İkinci görüş ise, KRK'de izlenen mikroçevre değişikliklerinin bazı bakterilere çoğalma avantajı sağlaması nedeniyle KRK'de mikrobiyom yapısının değişmesidir [149]. Gastrik kanserlerde *Helicobacter pylori* gibi tek patojen ile gelişen karsinogeneze karşın, KRK'de daha kompleks disbiyozis değişiklikleri rapor edilmektedir.

Çalışmamızda araştırdığımız bakteriler aynı zamanda periodontal patojenlerdir. Periodontal hastalıklar, periodontal ligamanlar ve komşuluğundaki alveolar kemiğin yıkımına neden olan polimikrobiyal kronik inflamatuvar hastalıklardır. Periodontal hastalıklar, hafif ve kısa sürede gelişen form olan jinjivitis ve persistan inflamasyon sonrası daha derin periodontal dokuların etkilenmesi ile gelişen periodontitis olarak ikiye ayrılmaktadır [150]. Periodontal hastalıkların, lokal inflamasyon yanında uzak organlarda da önemli sistemik hastalıklara neden olabileceği düşünülmektedir [151]. Aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve aspirasyon pnömonisi, olumsuz gebelik sonuçları, romatoid artrit ve kanserler bu sistemik hastalıklar arasındadır [151]. Periodontal hastalıklar ile kanser riski ilişkisinin, zayıflamış periodontal cep epiteli nedeniyle oral bakterilerin kan yoluyla diğer organlara ulaşması ve sistemik immün disregülasyon mekanizmaları ile olduğu öne sürülmüştür [152]. Periodontal hastalıkların gelişmesinde erken dönemde *Fusobacterium*, *Streptococcus* ve *Actinomyces* türlerinin kolonize olduğu ve bu bakterilerin adezinleri ile *Porphyromonas gingivalis* gibi daha patojenik sürücü (driver) mikroorganizmaların kolonizasyonuna yardımcı olduğu bilinmektedir [153].

Periodontal hastalıklar varlığında kanser riski artışı birçok kanserde

[154-155] gösterilmesine karşın KRK riskine dair veriler çelişkilidir. Nurses' Health Study kohortunda 77443 katılımcının değerlendirildiği bir araştırmada, herhangi bir periodontal hastalığı veya orta-ciddi periodontitisi olan katılımcıların KRK riskinde artma olmadığı görülmüştür [156]. Yine hiç sigara içmemiş 19933 erkek katılımcının dahil edildiği bir araştırmada, periodontal hastalık varlığı ile KRK riski arasında ilişki saptanmamıştır [154].

Subgingival plakta bazıları periodontal hastalıklara neden olan 700'ün üzerinde bakteri türü bulunmaktadır. Kolorektal kanser hastalarında, oral florada bulunan bu komensal ve periodontopatojenik bakterilerden *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus* ve *Parvimonas* türlerinin gaytada arttığı gösterilmiştir. Tümör dokusunda ise *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas* türlerinin arttığı rapor edilmiştir [149,153]. Subgingival plağın anaerob koşullarında adezinleri yardımıyla beraber yaşama adaptasyonu olan bu mikroorganizmaların kolondaki benzer koşullarda da çoğalma avantajı olduğu düşünülmektedir. Sağlıklı kolon dokusu ve kolorektal kanser dokusunda oral flora elemanlarını taşıyan biyofilmlerin gösterilmesi, bu görüşü desteklemektedir [157] .

Periodontal patojenlerin PCR ile sağlıklı bireylerde tükürükte tespit edilebileceği gösterilmiştir. Bu araştırmada periodontal açıdan sağlıklı 24 bireyden alınan tükürük örneklerinin PCR ile analiziyle; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* ve *Tannerella forsythia* bakterilerinin saptanma oranları ve miktarı ve total bakteri miktarı incelenmiştir. Bu araştırmada tüm tükürük örneklerinde *Fusobacterium nucleatum* saptanırken, *Porphyromonas gingivalis* 24 örneğin 11'inde (%46) saptanmıştır [61]. Araştırmamızın sonuçlarında bu araştırmaya benzer şekilde kontrol grubunun yüzde doksandan fazlasında *Fn* tespit edilirken, *Pg* saptama oranları araştırmamızda daha yüksek bulundu. Bu durumun nedeni, araştırmamızda kontrol grubunun periodontal açıdan sağlıklı olması şartının bulunmaması ve bazılarında periodontal hastalık varlığı olabilir. Kronik periodontitisi olan bireylerde tükürükte %70

düzeyinde *Pg* oranı rapor edilmiş olup [158], araştırmamızda *Pg* görülme yüzdesi hasta grupta %76,4 kontrol grupta ise %75,3 olarak hesaplandı.

Mikrobiyom sabit bir yapı olmayıp birçok faktörle dinamik bir şekilde değişmektedir. Doğum şekli, diet, ksenobiyotikler (antibiyotikler de dahil olmak üzere), enfeksiyonlar, diüurnal ritim ve enfeksiyöz etkenler bu faktörler arasında sayılabilir [159]. Kolon mikrobiyomu bu değişikliklerden belirgin şekilde etkilenirken tükürük mikrobiyomunun rölatif olarak daha stabil olduğu bilinmektedir [160]. 2005 yılında yayınlanan bir çalışmada, standart bir donörden 7 yıl boyunca alınan tükürük örneklerinde bakteriyel yapı incelenmiş ve örnekler arasında %87 uyum olduğu gösterilmiştir [161]. Zaman içinde mikrobiyom değişkenliğinin az olması hem uzun dönem etkilerinin incelenebilmesi açısından hem de örneklem zamanının esnekliği açısından avantaj sağlar. Yine tükürük örneklerinin seruma kıyasla daha kolay elde edilme, daha kolay taşınma ve saklama ve temas ile enfeksiyöz bulaşın daha düşük olması gibi avantajları mevcuttur [162].

Birçok oral ve sistemik hastalıkta, tükürük mikrobiyomu değişiklikleri gösterilmiştir. Özellikle kronik inflamatuvar hastalıklar, immün yetmezlik durumları ve metabolik hastalıklarda bu değişiklikler kapsamlı olarak araştırılmıştır [163]. Örneğin 2014 yılında yapılan bir araştırmada; inflamatuvar bağırsak hastalığı olanlarda tükürükte *Bacteroides* artışı ve *Proteobacteria* azalması olduğu bildirilmiştir [164]. Remisyonda çölyak hastaları, dirençli çölyak hastaları ve sağlıklı kontrollerden alınan tükürük örnekleri incelendiği 2017 yılında yayınlanan bir araştırmada, çölyak hastalarının tükürük glütenaz aktivitesi daha yüksek bulunmuştur. Mikrobiyom analizinde ise çölyak grubunda *Lactobacillus* yoğunluğunun daha fazla olduğu görülmüş ve bu glütenaz aktivitesinin *Lactobacillus* artışına ikincil olabileceği belirtilmiştir [165]. Bu araştırmada, GİS mukozasını ilgilendiren bir hastalıkta tükürük örnekleri ile patogenetik ipuçları elde edilmesi mümkün olmuştur. Literatürde romatoid artrit, akkiz immün yetmezlik, transplantasyon ilişkili immün baskılanma, hepatik ensefalopati gibi hastalıklarda da mikrobiyom değişiklikleri gösterilmiş olup bunlardan hepatik ensefalopati ve transplantasyon ilişkili immün baskılanmada inflamatuvar cevap ile mikrobiyom değişiklikleri arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir [166-169].

Kanserde tükürük mikrobiyom değişiklikleri, oral ve diğer kanserlerde gösterilmiştir. Özefagus yassı hücreli kanserlerinde *Prevotella*, *Streptococcus* ve *Porphyromonas artışı* [170], nazofarenks kanseri hastalarının tükürük örneklerinin analizinde *Firmicutes* suşlarında artış, *Proteobacteria* suşlarında ise azalma tespit edilmiştir [171]. Pankreas kanserinde tükürük mikrobiyom değişiklikleri ise 3 ayrı çalışmada değerlendirilmiştir. Bir araştırmada *Porphyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yoğunluğu artarken [172], benzer başka bir araştırmada *Leptotrichia/Porphyromonas* oranında artma ile *Neisseria* ve *Aggregatibacter* miktarında azalma olduğu bildirilmiştir [76]. Farrell ve ark. ise pankreas kanserli 10 hasta ve 10 sağlıklı kontrolün alındığı bir pilot çalışmada tükürükte *Neisseria elongata* ve *Streptococcus mitis* miktarları kullanılarak pankreas kanserli hastalarının, sağlıklı kontrollerden %96,4 sensitivite ve %82,1 spesifite ile ayrıldığını göstermişlerdir [173].

Kolorektal kanserde gayta ve tümör dokusundaki mikrobiyal yapıdaki değişiklikler birçok araştırmada gösterilmesine karşın, tükürükte bu değişiklikleri inceleyen araştırmalar son derece azdır. İrlanda'dan yapılan bir çalışmada, oral svap örneklerinden mikrobiyom analizi ile oluşturulan bir modelle KRK hastaları sağlıklı kontrollerden %53 sensitivite ve %96 spesifite ile ayrılmıştır. Bu araştırmada oral mikrobiyom verilerine fekal mikrobiyom verilerinin eklenmesi ile sensitivite %76'ya yükselmiştir. Araştırmada oral mikrobiyom ile oluşturulan tarama modeliyle, kolon polipleri %76 sensitivite ile belirlenmiş olup bu bulgu son derece dikkat çekicidir. Bazı çalışmalarda öncül lezyonların saptanamamış olması nedeniyle, mikrobiyom bazlı taramanın kullanışlılığı tartışılırken oral svap gibi non-invaziv bir örnek kolonda polip varlığının predikte edilmesi oldukça önemlidir [174]. Çalışmamızda kontrol grubunda kolonoskopi yapılmaması nedeniyle öncül lezyonlarda bakteri varlığı ve miktarı ile ilgili bir değerlendirme yapılamamıştır.

Araştırmamızda, hasta ve kontrol gruplarda total bakteri miktarının benzer olduğu görüldü. Bu konuda 1980 yılında yayınlanan bir araştırmada; KRK hastaları ve kontrollerden alınan gayta örneklerinde total aerob ve anaerob bakteri miktarı kültür yöntemiyle karşılaştırılmış olup, iki grup arasında aerob ve anaerob bakteri

miktarları benzer bulunmuştur [175]. Sobhani ve ark. tarafından 2011 yılında yayınlanan bir araştırmada 60 KRK hastası ve 119 kolonoskopik incelemesi normal denekten fekal mikrobiyom analizi yapılmış olup iki grupta total bakteri miktarının benzer olduğu ($p=0,21$) ancak incelenen bakterilerden *Bacteroides/Prevotella* türünün hasta grupta daha yüksek olduğu görülmüştür [53]. Japonya'dan 2014 yılında yayınlanan bir araştırmada ise 7 KRK hastası, 10 sağlıklı kontrol ve 11 tübüler adenomu olan denekte gayta ve kolon dokusunda mikrobiyom analizleri yapılmış ve çalışmada total bakteri miktarları da raporlanmıştır. Üç grupta gayta örneklerinde total bakteri miktarı benzer bulunmuştur ($p=0,563$). Kolorektal tümör, tübüler adenom ve sağlıklı kontrollerden alınan rektal biyopsi örneklerinde yapılan analizlerde de 3 grupta total bakteri miktarının benzer olduğu görülmüştür ($p=0,549$) [58].

Fusobacterium nucleatum yaygın bir periodontal patojen olup oral florada sıklıkla saptanmaktadır [61]. Kolorektal kanser hastalarında spesifik olarak tükürükte *Fn* miktarının değerlendirildiği tek çalışma bulunmaktadır. Kato ve ark. tarafından 2016 yılında yayınlanan bu araştırmada, %15 alkol içeren gargara ile 30 saniye ağız çalkalanması ile ağız suyu örnekleri elde edilmiştir. Bu araştırmada KRK hastaları ve sağlıklı kontrol gruplarında *Fn* saptanma oranları ve miktarı arasında fark saptanmamıştır [75].

Fusobacterium nucleatum, kolorektal kanserle ilişkisi en çok araştırılmış bakterilerden biridir. Bu bakteri ile ilgili araştırmalar genellikle tümör dokusu ve gayta örneklerinde yapılmıştır. Nurses' Health Study ve Health Professionals Follow-up Study kohortlarından elde edilen 598 KRK tümör dokusunun incelendiği bir araştırmada, tümörlerin 76'sında (%13) *Fn* saptandığı bildirilmiş olup bu araştırmada, *Fn* saptanan vakalarda tümörde CD3-T lenfosit yoğunluğunun düşük olduğu gösterilmiştir [176]. Aynı grup tarafından 2016 yılında yayınlanan, 1069 KRK hastasının patoloji örneklerinin incelendiği bir araştırmada, *Fn* miktarının mikrosatellit instabilitesi yüksek olan tümörlerde daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmada, *Fn* miktarı yüksek olan grupta KRK spesifik mortalitenin daha yüksek olduğu bildirilmiştir [51]. Benzer prognostik ilişki 2017 yılında yapılan bir araştırmada da bildirilmiş olup, *Fn* kopya sayısının tümör boyutu ve KRAS

mutasyonu ile korelasyon gösterdiği ve *Fn* kopya sayısı yüksek olan grupta genel sağkalımın daha düşük olduğu bildirilmiştir [177]. Japonya'dan 511 KRK tümör dokusunun incelendiği bir araştırmada ise tümörlerin 44'ünde (%8,6) *Fn* saptanmıştır. Bu araştırmada da *Fn* saptanma oranı ve miktarı, MSI (+) tümörlerde daha yüksek bulunmuştur [178]. Literatürde, MSI ile tükürük *Fn* ilişkisini rapor eden bir araştırmaya rastlanmamıştır. Araştırmamızda KRK'deki paternden farklı olarak, MSI (+) tümörlerde *Fn* miktarının düşük görülmesi dikkat çekici olup, bu bulgu patojenin oral kavite mikroçevresindeki etkilerinin, kolondan farklı olabileceğini düşündürmüştür.

Fusobacterium nucleatum'un, KRK patogenezinde immün baskılayıcı rolleri olduğu bilinmektedir. Bunlar arasında T-lenfositlerin mitojen ve antijenlere olan cevabının baskılanması, T-lenfositlerin hücre döngüsünün G1 fazında durdurulması ve T-lenfositlerin apoptozunun artırılması bulunmaktadır [179]. Kostic ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada; fare modelinde yapılan incelemelerde, *Fn* maruziyeti sonrası KRK'de multipl tümörlerin gelişiminin arttığı ve *Fn*'nin seçici olarak myeloid kökenli immün hücrelerin ekspansiyonuna neden olarak tümör mikroçevresinde T-lenfosit immünitesini baskıladığı raporlanmıştır. Ayrıca bu araştırmada fare modelinin ekspresyon profilinde COX-2, Interlökin (IL)1 β , IL6, IL8, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve matriks metalloproteinaz 3 (MMP3) artışı gösterilmiştir. Bu sitokin profili, nükleer faktör-kappa (NF- κ B) yolağında görülmekte olup bu yolağın inflamasyon ile kanser ilişkisinde merkezi rolü olduğu bilinmektedir [180]. Ayrıca *Fusobacterium nucleatum*, doğal katil hücrelerin sitotoksik etkilerini de baskılar. İmmün baskılayıcı özelliklere sahip miyeloid kökenli supresör hücreleri tümör bölgesine çeken kısa peptitler ve kısa zincirli yağ asitleri salgılar. Bu da tümörün ilerlemesi için ortamı daha da uygun hale getirir. *Fusobacterium nucleatum* glukoz tüketimi konusunda tümöre rakip olmaz, bunun yerine tümör mikroçevresinden salınan kısa zincirli yağ asitlerini enerji kaynağı olarak kullanır. Tüm bu özellikler tümörle simbiyotik bir ilişkinin göstergesidir [181].

Araştırmamızda, KRK hastaları ve kontrollerde *Sg* saptanma oranları benzer olup KRK grubunda *Sg* miktarı daha yüksek bulundu. Alt grup analizlerinde MSI

(+) tümörü olanlarda *Sg* miktarı düşük olup, tümör lokalizasyonu ve evrelere göre yapılan karşılaştırmalarda *Sg* miktarları gruplar arasında benzerdi. Araştırmamızda, KRK hastalarında tükürükte *Sg* ilk kez araştırılmış olup, kolon polipleri ve kanserlerinde kolonizasyonu olduğu bilinen bu bakterinin tükürük örneklerinde de saptanması önemli bir bulgudur. *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* (eski adıyla *streptococcus bovis*), KRK ile ilişkisi ilk bildirilen bakteridir. Özellikle *Sg* bakteriyemisi olan vakalarda KRK ve kolorektal adenom tespit edilme sıklığı yüksektir. *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus*'un IL1, IL8 ve COX-2 vasıtasıyla neden olduğu inflamasyonun KRK patogeneğinde etkisi olduğu öne sürülmüştür [56, 73]. Dişeti dokusu kanlanması zengin bir dokudur ve spontan ya da invazif prosedürler sonrası bakteriyemi riski yüksektir. Periodontal patojenler bakteriyemi yoluyla uzak organlarda akut olarak enfeksiyona neden olduğu gibi, kronik kolonizasyonla lokal ve uzak organlarda kanser gibi kronik hastalıkları tetikleyebilir, ancak bu hipotezin doğrulanması için tükürük, tümör dokusu ve kanda eş zamanlı mikrobiyolojik incelemeler yapılması gerekmektedir. Bir çalışmada 190 kolon kanserli hastada tümör dokusunda *Sg* analizi yapılmış ve sadece 6 hastada pozitif bulunmuştur. Bu hastaların normal kolon mukozalarında *Sg* saptanmamıştır. *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* enfeksiyonu ile tümör özellikleri ve mikrosatellit instabilitesi arasında ilişki saptanmamıştır. Ancak *Sg*'ye sıklıkla EBV ko-enfeksiyonunun eşlik ettiği görülmüştür. Yine aynı araştırmada kolon mukozasında *Sg* saptanma oranları ile tümör yerleşimi ve evresine göre yapılan karşılaştırmalarda da gruplar arasında fark bulunmamıştır [182]. *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* bakteriyemisi öyküsü olan hastalarda ise tümörlerin %46'sında *Sg* pozitif bulunmuştur [56]. *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus*'un kolon kanseri hücre kültürlerinde hücre büyümesi ve çoğalmasını artırdığı, kanserli hücrelerde *Sg* ile birlikte inkübasyon sonrasında hücrelerde β -catenin, c-Myc and PCNA ekspresyonlarının arttığı, β -catenin inhibe edildiğinde ise *Sg*'nin bu stimulan etkisinin ortadan kalktığı gösterilmiştir. *Streptococcus gallolyticus subspecies gallolyticus* ile enfekte edilen farelerde daha sık kolon tümörü görüldüğü, tümör yükünün ve displazi oranının daha fazla olduğu ve β -catenin ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir [183].

Çalışmamızda, KRK hastaları ve kontrollerde *Pg* saptanma oranları ve miktarları benzer bulundu. Alt grup analizlerinde; MSI durumu, tümör lokalizasyonu ve evrelere göre yapılan karşılaştırmalarda gruplar arasında *Pg* saptanma oranları ve miktarları benzer bulundu. Sağlıklı bireyler ve KRK hastalarının rektal svap örneklerinin karşılaştırıldığı bir araştırmada, KRK grubunda *Porphyromonas* artışı gösterilmiştir [184]. Ahn ve ark. tarafından 2013 yılında yayınlanan bir araştırmada; KRK hastalarında fekal örneklerde *Pg* yoğunluğunun kontrol grubunun yaklaşık 5 katı olduğu rapor edilmiştir [64]. *Porphyromonas gingivalis*'in, apoptoz inhibisyonu, hücre proliferasyon aktivasyonu ve inflamasyonu indüklemeye gibi mekanizmalarla oral karsinogenezi indüklediği ve bu yollarda rol alan birçok molekülde değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir [185]. Ayrıca *Pg* proteinlerinden sistemik inflamasyona yol açtığı bilinen GroEL proteinin doğrudan karsinojenik etkileri hayvan ve hücre kültürü çalışması ile gösterilmiştir. Araştırmada karsinom hücreleri taşıyan fareye düzenli olarak GroEL protein tedavisi verildiğinde, fare modelinde tümör boyutunda artma ve tümör gelişiminde hızlanma izlenmiştir. Yine bu çalışmada, GroEL tedavisi ile insan endotelial öncül hücrelerinde migrasyon ve E-selektin ekspresyon artışı izlenmiştir [186]. *Porphyromonas gingivalis*, 2016 yılında yapılan bir çalışmada, özofagus yassı hücreli kanseri örneklerinde gösterilmiş olup, bu durumun sağkalım ve metastaz gibi klinik parametrelerle de ilişkisi olabileceği bildirilmiştir [187]. Literatürde kolorektal kanser hastalarında tükürükte *Pg* saptanması ve miktarını inceleyen çalışmaya rastlanmamış olmakla birlikte, pankreas [172] ve özofagus kanseri [170] hastalarının tükürük örneklerinde artmış *Pg* düzeyleri olduğu gösterilmiştir.

Sağ ve sol kolon tümörlerinin farklı mikrobiyom yapısına sahip olduğu bilinmektedir. Literatürde sağ kolon tümörlerinde *Prevotella*, *Pyramido-bacterium*, *Selenomonas* ve *Peptostreptococcus* türleri daha sık görülürken sol kolon tümörlerinde *Fusobacterium*, *Escherichiae*, *Shigella* ve *Leptotrichia* türlerinin daha sık olduğu bildirilmiştir [188]. Araştırmamızda değerlendirilen bakterilerden, *Fn*'nin KRK'de lokalizasyona göre değişiminin, 1102 tümör dokusunda incelendiği bir çalışmada rektumdan çekuma doğru *Fn* varlığında artış olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmada, rektal kanserlerin %2,5'inde *Fn* tespit edilirken, çekal kanserlerin

%11'inde *Fn* tespit edilmiştir [189]. Literatürde tükürükte bakteri varlığı ve miktarı ile KRK lokalizasyonunu karşılaştıran bir araştırma olmadığı görülmüştür. Araştırmamızda *Fn*, *Sg* ve *Pg* varlığı ve miktarı sağ ve sol kolon tümörlerinde benzer bulundu.

Araştırmamızın bir kısıtlılığı, analiz için yeni nesil dizileme ile mikrobiyom profili belirlenmesi tekniği yerine daha basit ve ucuz olan PCR metodu kullanılmasıdır. Bu metotla sadece 3 bakteri analizi yapılmış olup, yeni nesil dizileme ile daha fazla bakterinin hem miktarının hem de rölatif sıklığının bir arada değerlendirilmesi mümkün olabilir. Hasta ve kontrollerin KRK gelişimi açısından risk faktörlerinin detaylı incelenememesi ve kontrol grubunda GİS'in kolonoskopik açıdan değerlendirilmemiş olması, kısıtlılıklar arasında sayılabilir.

Tablo 5.1. Literatürde oral mikrobiyom ve kanser ilişkisini inceleyen çalışmalardan örnekler

Yazar	Yıl	İncelenen Malignite	Denek Sayısı	Örnek Türü
Farrell JJ ve ark. [173]	2012	Pankreas Kanseri	83	Tükürük
Mager DL ve ark. [190]	2005	Oral Kanser	274	Tükürük
Chen X ve ark. [170]	2015	Özofagus Kanseri	235	Tükürük
Torres PJ ve ark. [76]	2015	Pankreas Kanseri	108	Tükürük
Guerrero-Preston R ve ark. [191]	2016	Oral Kanser	42	Tükürük
Olson SH ve ark. [192]	2017	Pankreas Kanseri	137	Tükürük
Kato I ve ark. [75]	2016	Kolorektal Kanser	190	Ağız Yıkama Suyu
Flemer B ve ark. [174]	2017	Kolorektal Kanser	234	Oral Svap

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda kolorektal kanserde tümör dokusu ve feçeste birçok araştırmada incelenen ancak tükürükte son derece az araştırılmış olan bakteriyel değişikliklerin incelenmesi hedeflenmiştir.

1. Çalışma sonuçlarına göre; KRK hastalarında tükürükte *Fn* ve *Sg* miktarı kontrol grubundan yüksek bulunmuştur. Bu bulgu oral flora elemanlarının, KRK patogenezindeki yerine ilişkin yeni araştırmalara temel olabilir. *Fusobacterium nucleatum*'un periodontal cepten bakteriyemi ile GİS'e transloke olabileceği düşünülürken, oral florada *Sg* varlığının KRK patogenezindeki yerine ilişkin ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.
2. Çalışmamızda, MSİ (+) hastalarda *Fn* ve *Sg* miktarı daha düşük bulunmuştur. Bu bulgu bu bakterilerin daha çok MSİ (-) hastalığın patogenezinde etkili olduğunu gösterebileceği gibi, MSİ (+) hasta sayısı az olduğu için insidental bir bulgu da olabilir.
3. Kolorektal kanser hastalarında oral kavitede *Fn* ve *Sg* artışının patogenetik rolü olduğuna dair kanıtların artması halinde, bu patojenlerin oral florada azaltılmasını hedefleyen primer prevansiyon çalışmaları planlanabilir.
4. Araştırmadan elde edilen verilerin KRK açısından öncül lezyonları olan vakaları da içeren geniş kohortlarda tekrarlanması halinde, tükürükte mikrobiyom araştırmaları ile KRK açısından yüksek riskli grupların belirlenmesi ve takibi mümkün olabilir.
5. Çalışmamızda ROC analizi ile yapılan değerlendirmede, tükürük *Sg* miktarının KRK'yi öngörmeye tanısallık değeri olduğu görülmüştür (AUC: 0,84 %95 GA 0,72-0,96 $p < 0,001$). Sınır değer olarak 3,32 log10 kopya/ml alındığında, bu değerden daha yüksek *Sg* miktarının %82 duyarlılık ve %76 özgüllükle KRK tanısını öngörebildiği belirlenmiştir. *Fusobacterium nucleatum* ve *Porphyromonas gingivalis* için yapılan ROC analizi istatistiksel açıdan anlamlı sonuç vermemiştir. Kolorektal kanser hastalarında sağlıklı kontrollerden farklı mikrobiyom yapısının gösterilmesi, mikrobiyom bazlı KRK taraması fikrine temel oluşturmaktadır. Günümüzde az sayıda merkezde sağlanabilen ileri teknoloji ile yüksek maliyetli olarak yapılan bu analizlerin yaygınlaşması halinde, bu taramanın kullanılabilirliği

daha iyi deęerlendirilebilecektir.

6. Literatürde tükürük mikrobiyomun KKK prognozu ile ilişkisi konusunda veri olmadığı görölmektedir. Araştırmamızdaki hastaların bu bağlamda takip edilmesi planlanmıştır.

Araştırmamızda elde edilen veriler tükürükte izlenen bu değişikliklerin prevansiyon, tarama, prognoz ve tedavi alanlarında potansiyel olarak kullanılabileceğini ve ağız hijyeninin sağlanması yönünde önerilerde bulunmanın kanserin primer prevansiyonu açısından da önemli ve gerekli olduğunu düşündürmektedir. Tükürük mikrobiyomundaki değişikliklerin yorumlanması ve günlük pratikte kullanılabilir hale gelmesi için bu konuda daha fazla sayıda araştırmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Wolf, A., ve ark., *The salivary microbiome as an indicator of carcinogenesis in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma: A pilot study*. Scientific Reports, 2017. 7: p. 5867.
2. Siegel, R.L., Miller, K.D., Jemal, A., *Cancer Statistics, 2017*. CA Cancer J Clin, 2017. 67(1): p. 7-30.
3. Siegel, R., ve ark., *Cancer statistics, 2011*. CA: A Cancer Journal for Clin, 2011. 61(4): p. 212-236.
4. Parkin, D.M., ve ark., *Global cancer statistics, 2002*. CA Cancer J Clin, 2005. 55(2): p. 74-108.
5. Van Schaeybroeck, S., ve ark., 77 - *Colorectal Cancer A2 - Niederhuber, John E, in Abeloff's Clinical Oncology (Fifth Edition)*, J.O. Armitage, ve ark., Editors. 2014, Philadelphia. p. 1278-1335.e14.
6. Lynch, H.T., de la Chapelle, A., *Hereditary Colorectal Cancer*. New England Journal of Medicine, 2003. 348(10): p. 919-932.
7. Sobhani, I., ve ark., *Microbial dysbiosis and colon carcinogenesis: could colon cancer be considered a bacteria-related disease?* Therapeutic Advances in Gastroenterology, 2013. 6(3): p. 215-229.
8. Hampel, H., ve ark., *Feasibility of Screening for Lynch Syndrome Among Patients With Colorectal Cancer*. Journal of Clinical Oncology, 2008. 26(35): p. 5783-5788.
9. Cunningham, D., ve ark., *Colorectal cancer*. The Lancet. 375(9719): p. 1030-1047.
10. Shussman, N., Wexner, S.D., *Colorectal polyps and polyposis syndromes*. Gastroenterology Report, 2014. 2(1): p. 1-15.
11. Manfredi, M., *Hereditary Hamartomatous Polyposis Syndromes: Understanding the Disease Risks As Children Reach Adulthood*. Gastroenterology & Hepatology, 2010. 6(3): p. 185-196.
12. Kalady, M.F., ve ark., *Hyperplastic polyposis syndrome: a call for broader diagnostic criteria*. Hereditary Cancer in Clinical Practice, 2010. 8(Suppl 1): p. P8-P8.
13. Mulder, S.A., ve ark., *The incidence and risk factors of metachronous colorectal cancer: an indication for follow-up*. Dis Colon Rectum, 2012. 55(5): p. 522-31.
14. Martínez*, M., ve ark., *One-year risk for advanced colorectal neoplasia: U.s. versus u.k. risk-stratification guidelines*. Annals of Internal Medicine, 2012. 157(12): p. 856-864.
15. Bond, J.H., *Polyp guideline: diagnosis, treatment, and surveillance for patients with colorectal polyps*. Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Am J Gastroenterol, 2000. 95(11): p. 3053-63.

16. Imperiale, T.F., Ransohoff, D.F., *Risk for colorectal cancer in persons with a family history of adenomatous polyps: a systematic review*. Ann Intern Med, 2012. **156**(10): p. 703-9.
17. Taylor, D.P., ve ark., *Population-based family history-specific risks for colorectal cancer: a constellation approach*. Gastroenterology, 2010. **138**(3): p. 877-85.
18. Provenzale, D., ve ark., *Colorectal Cancer Screening, Version 1.2015*. J Natl Compr Canc Netw, 2015. **13**(8): p. 959-68; quiz 968.
19. Itzkowitz, S., *Colon carcinogenesis in inflammatory bowel disease: applying molecular genetics to clinical practice*. J Clin Gastroenterol, 2003. **36**(5 Suppl): p. S70-4; discussion S94-6.
20. Eaden, J.A., Abrams, K.R., Mayberry, J.F., *The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis*. Gut, 2001. **48**(4): p. 526-35.
21. Ekblom, A., ve ark., *Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study*. N Engl J Med, 1990. **323**(18): p. 1228-33.
22. Guagnozzi, D., Lucendo, A.J., *Colorectal cancer surveillance in patients with inflammatory bowel disease: What is new?* World Journal of Gastrointestinal Endoscopy, 2012. **4**(4): p. 108-116.
23. Kim, E.R., Chang, D.K., *Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the risk, pathogenesis, prevention and diagnosis*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(29): p. 9872-81.
24. Santos, S.C.D.d., Barbosa, L.E.R., *Crohn's disease: risk factor for colorectal cancer*. Journal of Coloproctology, 2017. **37**(1): p. 55-62.
25. *2013 Yılı Türkiye Kanseri İstatistikleri*. <http://kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri/1793-2013-y%C4%B1l%C4%B1-t%C3%BCrkiye-kanser-istatistikleri.html>.
26. Gao, R.N., Neutel, C.I., Wai, E., *Gender differences in colorectal cancer incidence, mortality, hospitalizations and surgical procedures in Canada*. Journal of Public Health, 2008. **30**(2): p. 194-201.
27. Kim, S.E., ve ark., *Sex- and gender-specific disparities in colorectal cancer risk*. World J Gastroenterol, 2015. **21**(17): p. 5167-75.
28. Larsson, S.C., Giovannucci, E., Wolk, A., *Diabetes and colorectal cancer incidence in the cohort of Swedish men*. Diabetes Care, 2005. **28**(7): p. 1805-7.
29. Larsson, S.C., Wolk, A., *Obesity and colon and rectal cancer risk: a meta-analysis of prospective studies*. Am J Clin Nutr, 2007. **86**(3): p. 556-65.
30. Wang, Y., ve ark., *A pooled analysis of alcohol intake and colorectal cancer*. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2015. **8**(5): p. 6878-6889.
31. Gong, J., ve ark., *A pooled analysis of smoking and colorectal cancer: timing of exposure and interactions with environmental factors*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2012. **21**(11): p. 1974-85.

32. Liang, P.S., Chen, T.Y., Giovannucci, E., *Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis*. Int J Cancer, 2009. **124**(10): p. 2406-15.
33. Savage, D.C., *Microbial ecology of the gastrointestinal tract*. Annu Rev Microbiol, 1977. **31**: p. 107-33.
34. O'Keefe, S.J., *Nutrition and colonic health: the critical role of the microbiota*. Curr Opin Gastroenterol, 2008. **24**(1): p. 51-8.
35. *A framework for human microbiome research*. Nature, 2012. **486**(7402): p. 215-21.
36. *Structure, function and diversity of the healthy human microbiome*. Nature, 2012. **486**(7402): p. 207-14.
37. Costello, E.K., ve ark., *Bacterial community variation in human body habitats across space and time*. Science, 2009. **326**(5960): p. 1694-7.
38. Nagao-Kitamoto, H., ve ark., *Pathogenic role of the gut microbiota in gastrointestinal diseases*. Intestinal Research, 2016. **14**(2): p. 127-138.
39. de Martel, C., ve ark., *Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis*. Lancet Oncol, 2012. **13**(6): p. 607-15.
40. Schwabe, R.F., Jobin, C., *The microbiome and cancer*. Nat Rev Cancer, 2013. **13**(11): p. 800-12.
41. Tappenden, K.A., Deutsch, A.S., *The physiological relevance of the intestinal microbiota--contributions to human health*. J Am Coll Nutr, 2007. **26**(6): p. 679s-83s.
42. Kornbluth, A.A., Danzig, J.B., Bernstein, L.H., *Clostridium septicum infection and associated malignancy. Report of 2 cases and review of the literature*. Medicine (Baltimore), 1989. **68**(1): p. 30-7.
43. Boleij, A., Tjalsma, H., *The itinerary of Streptococcus gallolyticus infection in patients with colonic malignant disease*. Lancet Infect Dis, 2013. **13**(8): p. 719-24.
44. Dove, W.F., ve ark., *Intestinal neoplasia in the ApcMin mouse: independence from the microbial and natural killer (beige locus) status*. Cancer Res, 1997. **57**(5): p. 812-4.
45. Arthur, J.C., ve ark., *Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota*. Science, 2012. **338**(6103): p. 120-3.
46. Cuevas-Ramos, G., ve ark., *Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(25): p. 11537-42.
47. Toprak, N.U., ve ark., *A possible role of Bacteroides fragilis enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer*. Clin Microbiol Infect, 2006. **12**(8): p. 782-6.

48. Wu, S., ve ark., *A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses*. Nat Med, 2009. **15**(9): p. 1016-22.
49. Boleij, A., Schaeps, R.M., Tjalsma, H., *Association between Streptococcus bovis and colon cancer*. J Clin Microbiol, 2009. **47**(2): p. 516.
50. Alpern, R.J., Dowell, V.R. Jr, *Clostridium septicum infections and malignancy*. JAMA, 1969. **209**(3): p. 385-388.
51. Mima, K., ve ark., *Fusobacterium nucleatum in colorectal carcinoma tissue and patient prognosis*. Gut, 2016. **65**(12): p. 1973-1980.
52. Amitay, E.L., ve ark., *Fusobacterium and colorectal cancer: causal factor or passenger? Results from a large colorectal cancer screening study*. Carcinogenesis, 2017. **38**(8): p. 781-788.
53. Sobhani, I., ve ark., *Microbial Dysbiosis in Colorectal Cancer (CRC) Patients*. PLoS ONE, 2011. **6**(1): p. e16393.
54. Wang, T., ve ark., *Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers*. ISME J, 2012. **6**(2): p. 320-9.
55. Wu, N., ve ark., *Dysbiosis signature of fecal microbiota in colorectal cancer patients*. Microb Ecol, 2013. **66**(2): p. 462-70.
56. Abdulamir, A.S., Hafidh, R.R., Bakar, F.A., *Molecular detection, quantification, and isolation of Streptococcus gallolyticus bacteria colonizing colorectal tumors: inflammation-driven potential of carcinogenesis via IL-1, COX-2, and IL-8*. Mol Cancer, 2010. **9**: p. 249.
57. Marchesi, J.R., ve ark., *Towards the Human Colorectal Cancer Microbiome*. PLoS ONE, 2011. **6**(5): p. e20447.
58. Mira-Pascual, L., ve ark., *Microbial mucosal colonic shifts associated with the development of colorectal cancer reveal the presence of different bacterial and archaeal biomarkers*. Journal of Gastroenterology, 2015. **50**(2): p. 167-179.
59. Bonnet, M., ve ark., *Colonization of the Human Gut by E. Coli and Colorectal Cancer Risk*. Clinical Cancer Research, 2014. **20**(4): p. 859-867.
60. Weir, T.L., ve ark., *Stool Microbiome and Metabolome Differences between Colorectal Cancer Patients and Healthy Adults*. PLoS ONE, 2013. **8**(8): p. e70803.
61. Zhou, X., ve ark., *Real-time PCR quantification of six periodontal pathogens in saliva samples from healthy young adults*. Clin Oral Investig, 2015. **19**(4): p. 937-46.
62. Ohkusa, T., ve ark., *Induction of experimental ulcerative colitis by Fusobacterium varium isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis*. Gut, 2003. **52**(1): p. 79-83.
63. Signat, B., ve ark., *Fusobacterium nucleatum in periodontal health and disease*. Curr Issues Mol Biol, 2011. **13**(2): p. 25-36.

64. Ahn, J., ve ark., *Human Gut Microbiome and Risk for Colorectal Cancer*. JNCI Journal of the National Cancer Institute, 2013. **105**(24): p. 1907-1911.
65. Viljoen, K.S., ve ark., *Quantitative Profiling of Colorectal Cancer-Associated Bacteria Reveals Associations between Fusobacterium spp., Enterotoxigenic Bacteroides fragilis (ETBF) and Clinicopathological Features of Colorectal Cancer*. PLoS ONE, 2015. **10**(3): p. e0119462.
66. Liang, Q., ve ark., *Fecal Bacteria Act as Novel Biomarkers for Noninvasive Diagnosis of Colorectal Cancer*. Clin Cancer Res, 2017. **23**(8): p. 2061-2070.
67. Oke, S., Martin, A., *Insights into the role of the intestinal microbiota in colon cancer*. Therapeutic Advances in Gastroenterology, 2017. **10**(5): p. 417-428.
68. Pihlstrom, B.L., Michalowicz, B.S., Johnson, N.W., *Periodontal diseases*. Lancet, 2005. **366**(9499): p. 1809-20.
69. Yin, L., Chung, W.O., *Epigenetic regulation of human β -defensin 2 and CC chemokine ligand 20 expression in gingival epithelial cells in response to oral bacteria*. Mucosal Immunology, 2011. **4**(4): p. 409-419.
70. Ahn, J., Segers, S., Hayes, R.B., *Periodontal disease, Porphyromonas gingivalis serum antibody levels and orodigestive cancer mortality*. Carcinogenesis, 2012. **33**(5): p. 1055-8.
71. Ahn, J., ve ark., *Human gut microbiome and risk for colorectal cancer*. J Natl Cancer Inst, 2013. **105**(24): p. 1907-11.
72. Schlegel, L., ve ark., *Reappraisal of the taxonomy of the Streptococcus bovis/Streptococcus equinus complex and related species: description of Streptococcus gallolyticus subsp. gallolyticus subsp. nov., S. gallolyticus subsp. macedonicus subsp. nov. and S. gallolyticus subsp. pasteurianus subsp. nov.* Int J Syst Evol Microbiol, 2003. **53**(Pt 3): p. 631-45.
73. Boleij, A., ve ark., *Clinical Importance of Streptococcus gallolyticus Infection Among Colorectal Cancer Patients: Systematic Review and Meta-analysis*. Clinical Infectious Diseases, 2011. **53**(9): p. 870-878.
74. Zammit, S.C., Azzopardi, N., Ellul, P., *Streptococcus gallolyticus bacteraemia in hepatobiliary-pancreatic and colonic pathologies*. QJM: An International Journal of Medicine, 2014. **107**(5): p. 355-361.
75. Kato, I., ve ark., *Oral microbiome and history of smoking and colorectal cancer*. Journal of epidemiological research, 2016. **2**(2): p. 92-101.
76. Torres, P.J., ve ark., *Characterization of the salivary microbiome in patients with pancreatic cancer*. Peer J, 2015. **3**: p. e1373.
77. Wolin, K.Y., ve ark., *Physical activity and colon cancer prevention: a meta-analysis*. Br J Cancer, 2009. **100**(4): p. 611-6.
78. Slaterry, M.L., ve ark., *Physical activity and colorectal cancer*. Am J Epidemiol, 2003. **158**(3): p. 214-24.

79. Meyerhardt, J.A., ve ark., *Physical activity and male colorectal cancer survival*. Arch Intern Med, 2009. **169**(22): p. 2102-8.
80. Fuchs, C.S., ve ark., *Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women*. N Engl J Med, 1999. **340**(3): p. 169-76.
81. Pietinen, P., ve ark., *Diet and risk of colorectal cancer in a cohort of Finnish men*. Cancer Causes Control, 1999. **10**(5): p. 387-96.
82. Kunzmann, A.T., ve ark., *Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer and incident and recurrent adenoma in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial*. Am J Clin Nutr, 2015. **102**(4): p. 881-90.
83. Armstrong, B., Doll, R., *Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries, with special reference to dietary practices*. Int J Cancer, 1975. **15**(4): p. 617-31.
84. Willett, W.C., ve ark., *Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women*. N Engl J Med, 1990. **323**(24): p. 1664-72.
85. Wu, K., ve ark., *A randomized trial on folic acid supplementation and risk of recurrent colorectal adenoma*. Am J Clin Nutr, 2009. **90**(6): p. 1623-31.
86. Qin, T., ve ark., *Folic acid supplements and colorectal cancer risk: meta-analysis of randomized controlled trials*. Scientific Reports, 2015. **5**: p. 12044.
87. Cole, B.F., ve ark., *Folic acid for the prevention of colorectal adenomas: a randomized clinical trial*. JAMA, 2007. **297**(21): p. 2351-9.
88. Zhang, X., ve ark., *Calcium intake and colorectal cancer risk: Results from the nurses' health study and health professionals follow-up study*. Int J Cancer, 2016. **139**(10): p. 2232-42.
89. Yin, L., ve ark., *Meta-analysis: longitudinal studies of serum vitamin D and colorectal cancer risk*. Aliment Pharmacol Ther, 2009. **30**(2): p. 113-25.
90. Tougeron, D., ve ark., *Aspirin and colorectal cancer: Back to the Future*. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research, 2014. **20**(5): p. 1087-1094.
91. Ruder, E.H., ve ark., *Non-steroidal anti-inflammatory drugs and colorectal cancer risk in a large, prospective cohort*. Am J Gastroenterol, 2011. **106**(7): p. 1340-50.
92. Wang, X., ve ark., *Association of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs with Colorectal Cancer by Subgroups in the VITamins And Lifestyle (VITAL) Study*. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology, 2015. **24**(4): p. 727-735.
93. Fearon, E.R., Vogelstein, B., *A genetic model for colorectal tumorigenesis*. Cell, 1990. **61**(5): p. 759-67.

94. Winawer, S.J., ve ark., *Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup.* N Engl J Med, 1993. **329**(27): p. 1977-81.
95. Winawer, S.J., ve ark., *Colorectal cancer screening: clinical guidelines and rationale.* Gastroenterology, 1997. **112**(2): p. 594-642.
96. Rex, D.K., ve ark., *Colorectal Cancer Screening: Recommendations for Physicians and Patients From the U.S. Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer.* Gastroenterology. **153**(1): p. 307-323.
97. Rembacken, B.J., ve ark., *Flat and depressed colonic neoplasms: a prospective study of 1000 colonoscopies in the UK.* Lancet, 2000. **355**(9211): p. 1211-4.
98. Winawer, S.J., ve ark., *Guidelines for colonoscopy surveillance after polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer and the American Cancer Society.* CA Cancer J Clin, 2006. **56**(3): p. 143-59; quiz 184-5.
99. Soetikno, R.M., ve ark., *Prevalence of nonpolypoid (flat and depressed) colorectal neoplasms in asymptomatic and symptomatic adults.* JAMA, 2008. **299**(9): p. 1027-35.
100. Ferlitsch, M., ve ark., *Sex-specific prevalence of adenomas, advanced adenomas, and colorectal cancer in individuals undergoing screening colonoscopy.* JAMA, 2011. **306**(12): p. 1352-8.
101. Brenner, H., ve ark., *Protection from colorectal cancer after colonoscopy: a population-based, case-control study.* Ann Intern Med, 2011. **154**(1): p. 22-30.
102. Ponugoti, P.L., Cummings O.W., Rex D.K., *Risk of cancer in small and diminutive colorectal polyps.* Dig Liver Dis, 2017. **49**(1): p. 34-37.
103. Lieberman, D.A., ve ark., *Guidelines for colonoscopy surveillance after screening and polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer.* Gastroenterology, 2012. **143**(3): p. 844-857.
104. Doubeni, C.A., *Screening for colorectal cancer: Strategies in patients at average risk.* <https://www.uptodate.com/contents/screening-for-colorectal-cancer-strategies-in-patients-at-average-risk> - H1.
105. Baxter, N.N., ve ark., *Association of colonoscopy and death from colorectal cancer.* Annals of Internal Medicine, 2009. **150**(1): p. 1-8.
106. Baxter, N.N., ve ark., *Association between colonoscopy and colorectal cancer mortality in a US cohort according to site of cancer and colonoscopist specialty.* J Clin Oncol, 2012. **30**(21): p. 2664-9.
107. Doubeni, C.A., ve ark., *Effectiveness of screening colonoscopy in reducing the risk of death from right and left colon cancer: a large community-based study.* Gut, 2016.

108. Benson, A.B., 3rd, ve ark., *Colon Cancer, Version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology*. J Natl Compr Canc Netw, 2017. **15**(3): p. 370-398.
109. Castro, G., ve ark., *Outpatient colonoscopy complications in the CDC's Colorectal Cancer Screening Demonstration Program: a prospective analysis*. Cancer, 2013. **119 Suppl 15**: p. 2849-54.
110. Singh, H., ve ark., *The reduction in colorectal cancer mortality after colonoscopy varies by site of the cancer*. Gastroenterology, 2010. **139**(4): p. 1128-37.
111. Holme, O., ve ark., *Effectiveness of flexible sigmoidoscopy screening in men and women and different age groups: pooled analysis of randomised trials*. BMJ, 2017. **356**: p. i6673.
112. Rex, D.K., ve ark., *Accuracy of Capsule Colonoscopy in Detecting Colorectal Polyps in a Screening Population*. Gastroenterology. **148**(5): p. 948-957.e2.
113. Johnson, C.D., ve ark., *Accuracy of CT colonography for detection of large adenomas and cancers*. N Engl J Med, 2008. **359**(12): p. 1207-17.
114. Bibbins-Domingo, K., ve ark., *Screening for Colorectal Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement*. JAMA, 2016. **315**(23): p. 2564-2575.
115. Zalis, M.E., ve ark., *CT colonography reporting and data system: a consensus proposal*. Radiology, 2005. **236**(1): p. 3-9.
116. Theuer, C.P., ve ark., *Racial and ethnic colorectal cancer patterns affect the cost-effectiveness of colorectal cancer screening in the United States*. Gastroenterology, 2001. **120**(4): p. 848-56.
117. Mandel, J.S., ve ark., *Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. Minnesota Colon Cancer Control Study*. N Engl J Med, 1993. **328**(19): p. 1365-71.
118. Kronborg, O., ve ark., *Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test*. Lancet, 1996. **348**(9040): p. 1467-71.
119. Rex, D.K., ve ark., *American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]*. Am J Gastroenterol, 2009. **104**(3): p. 739-50.
120. Allison, J.E., ve ark., *Screening for colorectal neoplasms with new fecal occult blood tests: update on performance characteristics*. J Natl Cancer Inst, 2007. **99**(19): p. 1462-70.
121. Agrawal, S., ve ark., *Colorectal cancer in African Americans*. Am J Gastroenterol, 2005. **100**(3): p. 515-23; discussion 514.
122. Lansdorp-Vogelaar, I., ve ark., *Contribution of screening and survival differences to racial disparities in colorectal cancer rates*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2012. **21**(5): p. 728-36.

123. Young, G.P., ve ark., *Guaiac based faecal occult blood testing for colorectal cancer screening: an obsolete strategy?* Gut, 2012. **61**(7): p. 959-960.
124. Imperiale, T.F., ve ark., *Multitarget Stool DNA Testing for Colorectal-Cancer Screening*. New England Journal of Medicine, 2014. **370**(14): p. 1287-1297.
125. Benson, A.B., 3rd, *Epidemiology, disease progression, and economic burden of colorectal cancer*. J Manag Care Pharm, 2007. **13**(6 Suppl C): p. S5-18.
126. Ling, B.S., ve ark., *Attitudes toward colorectal cancer screening tests*. J Gen Intern Med, 2001. **16**(12): p. 822-30.
127. Zackular, J.P., ve ark., *The Human Gut Microbiome as a Screening Tool for Colorectal Cancer*. Cancer Prevention Research, 2014.
128. Amiot, A., ve ark., *The Detection of the Methylated Wif-1 Gene Is More Accurate than a Fecal Occult Blood Test for Colorectal Cancer Screening*. PLoS ONE, 2014. **9**(7): p. e99233.
129. Zeller, G., ve ark., *Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer*. Molecular Systems Biology, 2014. **10**(11): p. 766.
130. Labianca, R., ve ark., *Primary colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up*. Ann Oncol, 2010. **21 Suppl 5**: p. v70-7.
131. Siegel, R.L., Miller, K.D., Jemal, A., *Cancer statistics, 2016*. CA Cancer J Clin, 2016. **66**(1): p. 7-30.
132. Amin MB, E.S., Greene F.L., ve ark., *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. 2017: Springer.
133. Liu, Z., ve ark., *A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic and Prognostic Serum Biomarkers of Colorectal Cancer*. PLoS ONE 2014. **9**(8): p. e103910.
134. Locker, G.Y., ve ark., *ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer*. J Clin Oncol, 2006. **24**(33): p. 5313-27.
135. Shen, H., ve ark., *Different treatment strategies and molecular features between right-sided and left-sided colon cancers*. World Journal of Gastroenterology : WJG, 2015. **21**(21): p. 6470-6478.
136. Lee, M.S., Menter D.G., Kopetz S., *Right Versus Left Colon Cancer Biology: Integrating the Consensus Molecular Subtypes*. J Natl Compr Canc Netw, 2017. **15**(3): p. 411-419.
137. Riihimäki, M., ve ark., *Patterns of metastasis in colon and rectal cancer*. Scientific Reports, 2016. **6**: p. 29765.
138. Yahagi, M., ve ark., *The Worse Prognosis of Right-Sided Compared with Left-Sided Colon Cancers: a Systematic Review and Meta-analysis*. J Gastrointest Surg, 2016. **20**(3): p. 648-55.

139. Petrelli, F., ve ark., *Prognostic Survival Associated With Left-Sided vs Right-Sided Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis*. JAMA Oncol, 2016.
140. Ahmed, S., ve ark., *Primary Tumor Location and Survival in the General Population With Metastatic Colorectal Cancer*. Clin Colorectal Cancer, 2017.
141. Boisen, M.K., ve ark., *Primary tumor location and bevacizumab effectiveness in patients with metastatic colorectal cancer*. Annals of Oncology, 2013. **24**(10): p. 2554-2559.
142. Tejpar, S., ve ark., *Prognostic and Predictive Relevance of Primary Tumor Location in Patients With RAS Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer: Retrospective Analyses of the CRYSTAL and FIRE-3 Trials*. JAMA Oncol, 2016.
143. Holch, J.W., ve ark., *The relevance of primary tumour location in patients with metastatic colorectal cancer: A meta-analysis of first-line clinical trials*. Eur J Cancer, 2017. **70**: p. 87-98.
144. Gervaz, P., ve ark., *Comparison of microsatellite instability and chromosomal instability in predicting survival of patients with T3N0 colorectal cancer*. Surgery. **131**(2): p. 190-197.
145. Sugai, T., ve ark., *Analysis of Molecular Alterations in Left- and Right-Sided Colorectal Carcinomas Reveals Distinct Pathways of Carcinogenesis: Proposal for New Molecular Profile of Colorectal Carcinomas*. The Journal of molecular diagnostics : JMD, 2006. **8**(2): p. 193-201.
146. Shin, U.S., ve ark., *Is Microsatellite Instability Really a Good Prognostic Factor of Colorectal Cancer?* Annals of Coloproctology, 2014. **30**(1): p. 28-34.
147. Sinicrope, F.A., ve ark., *Prognostic Impact of Deficient DNA Mismatch Repair in Patients With Stage III Colon Cancer From a Randomized Trial of FOLFOX-Based Adjuvant Chemotherapy*. Journal of Clinical Oncology, 2013. **31**(29): p. 3664-3672.
148. Labianca, R., ve ark., *Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†*. Annals of Oncology, 2013. **24**(suppl_6): p. vi64-vi72.
149. Gagnière, J., ve ark., *Gut microbiota imbalance and colorectal cancer*. World Journal of Gastroenterology, 2016. **22**(2): p. 501-518.
150. Lauritano, D., ve ark., *Focus on periodontal disease and colorectal carcinoma*. Oral Implantol (Rome), 2017. **10**(3): p. 229-233.
151. Hajishengallis, G., *Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation*. Nature reviews. Immunology, 2015. **15**(1): p. 30-44.
152. Mai, X., ve ark., *Periodontal Pathogens and Risk of Incident Cancer in Postmenopausal Females: The Buffalo OsteoPerio Study*. Journal of periodontology, 2016. **87**(3): p. 257-267.

153. Flynn, K.J., Baxter N.T., Schloss P.D., *Metabolic and Community Synergy of Oral Bacteria in Colorectal Cancer*. mSphere, 2016. **1**(3): p. e00102-16.
154. Michaud, D.S., ve ark., *Periodontal disease and risk of all cancers among male never smokers: an updated analysis of the Health Professionals Follow-up Study*. Annals of Oncology, 2016. **27**(5): p. 941-947.
155. Freudenheim, J.L., ve ark., *Periodontal disease and breast cancer: Prospective cohort study of postmenopausal women*. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology, 2016. **25**(1): p. 43-50.
156. Momen-Heravi, F., ve ark., *Periodontal disease, tooth loss and colorectal cancer risk: Results from the Nurses' Health Study*. International Journal of Cancer, 2017. **140**(3): p. 646-652.
157. Dejea, C.M., ve ark., *Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014. **111**(51): p. 18321-18326.
158. Mättö, J., ve ark., *Detection of Porphyromonas gingivalis from Saliva by PCR by Using a Simple Sample-Processing Method*. Journal of Clinical Microbiology, 1998. **36**(1): p. 157-160.
159. Lynch, S.V., Pedersen O., *The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease*. New England Journal of Medicine, 2016. **375**(24): p. 2369-2379.
160. Zaura, E., ve ark., *Same Exposure but Two Radically Different Responses to Antibiotics: Resilience of the Salivary Microbiome versus Long-Term Microbial Shifts in Feces*. mBio, 2015. **6**(6): p. e01693-15.
161. Rasiah, I.A., ve ark., *Variation in bacterial DGGE patterns from human saliva: over time, between individuals and in corresponding dental plaque microcosms*. Arch Oral Biol, 2005. **50**(9): p. 779-87.
162. Yoshizawa, J.M., ve ark., *Salivary Biomarkers: Toward Future Clinical and Diagnostic Utilities*. Clinical Microbiology Reviews, 2013. **26**(4): p. 781-791.
163. Acharya, A., ve ark., *Salivary microbiome in non-oral disease: A summary of evidence and commentary*. Arch Oral Biol, 2017. **83**: p. 169-173.
164. Said, H.S., ve ark., *Dysbiosis of Salivary Microbiota in Inflammatory Bowel Disease and Its Association With Oral Immunological Biomarkers*. DNA Research: An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes, 2014. **21**(1): p. 15-25.
165. Tian, N., ve ark., *Salivary Gluten Degradation and Oral Microbial Profiles in Healthy Individuals and Celiac Disease Patients*. Applied and Environmental Microbiology, 2017. **83**(6): p. e03330-16.
166. Zhang, X., ve ark., *The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment*. Nature Medicine, 2015. **21**: p. 895.

167. Zhang, F., ve ark., *Exploring salivary microbiota in AIDS patients with different periodontal statuses using 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2015. 5(55).
168. Diaz, P.I., ve ark., *Transplantation-Associated Long-Term Immunosuppression Promotes Oral Colonization by Potentially Opportunistic Pathogens without Impacting Other Members of the Salivary Bacteriome*. *Clinical and Vaccine Immunology : CVI*, 2013. 20(6): p. 920-930.
169. Bajaj, J.S., ve ark., *Salivary Microbiota Reflects Changes in Gut Microbiota in Cirrhosis with Hepatic Encephalopathy*. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 2015. 62(4): p. 1260-1271.
170. Chen, X., ve ark., *Oral Microbiota and Risk for Esophageal Squamous Cell Carcinoma in a High-Risk Area of China*. *PLoS ONE*, 2015. 10(12): p. e0143603.
171. Xu, Y., ve ark., *Changes of saliva microbiota in nasopharyngeal carcinoma patients under chemoradiation therapy*. *Archives of Oral Biology*, 2014. 59(2): p. 176-186.
172. Fan, X., ve ark., *Human oral microbiome and prospective risk for pancreatic cancer: a population-based nested case-control study*. *Gut*, 2018. 67(1): p. 120.
173. Farrell, J.J., ve ark., *Variations of oral microbiota are associated with pancreatic diseases including pancreatic cancer*. *Gut*, 2012. 61(4): p. 582-588.
174. Flemer, B., ve ark., *The oral microbiota in colorectal cancer is distinctive and predictive*. *Gut*, 2017.
175. Vargo, D., Moskovitz, M., Floch, M.H., *Faecal bacterial flora in cancer of the colon*. *Gut*, 1980. 21(8): p. 701-705.
176. Mima, K., ve ark., *Fusobacterium nucleatum and T-cells in Colorectal Carcinoma*. *JAMA Oncology*, 2015. 1(5): p. 653-661.
177. Yamaoka, Y., ve ark., *Fusobacterium nucleatum as a prognostic marker of colorectal cancer in a Japanese population*. *Journal of Gastroenterology*, 2017.
178. Ito, M., ve ark., *Association of Fusobacterium nucleatum with clinical and molecular features in colorectal serrated pathway*. *International Journal of Cancer*, 2015. 137(6): p. 1258-1268.
179. Nosho, K., ve ark., *Association of Fusobacterium nucleatum with immunity and molecular alterations in colorectal cancer*. *World Journal of Gastroenterology*, 2016. 22(2): p. 557-566.
180. Kostic, A.D., ve ark., *Fusobacterium nucleatum potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor immune microenvironment*. *Cell host & microbe*, 2013. 14(2): p. 207-215.

181. Bashir, A., ve ark., *Fusobacterium nucleatum*, inflammation, and immunity: the fire within human gut. *Tumor Biology*, 2016. **37**(3): p. 2805-2810.
182. Andres-Franch, M., ve ark., *Streptococcus gallolyticus* infection in colorectal cancer and association with biological and clinical factors. *PLoS ONE*, 2017. **12**(3): p. e0174305.
183. Kumar, R., ve ark., *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* promotes colorectal tumor development. *PLoS Pathogens*, 2017. **13**(7): p. e1006440.
184. Chen, W., ve ark., *Human Intestinal Lumen and Mucosa-Associated Microbiota in Patients with Colorectal Cancer*. *PLoS ONE*, 2012. **7**(6): p. e39743.
185. Perera, M., ve ark., *Emerging role of bacteria in oral carcinogenesis: a review with special reference to perio-pathogenic bacteria*. *Journal of Oral Microbiology*, 2016. **8**: p. 10.3402/jom.v8.32762.
186. Lin, F.Y., ve ark., *The GroEL protein of Porphyromonas gingivalis accelerates tumor growth by enhancing endothelial progenitor cell function and neovascularization*. *Molecular Oral Microbiology*, 2015. **30**(3): p. 198-216.
187. Gao, S., ve ark., *Presence of Porphyromonas gingivalis in esophagus and its association with the clinicopathological characteristics and survival in patients with esophageal cancer*. *Infectious Agents and Cancer*, 2016. **11**: p. 3.
188. Stintzing, S., ve ark., *Understanding the role of primary tumour localisation in colorectal cancer treatment and outcomes*. *European Journal of Cancer*. **84**: p. 69-80.
189. Mima, K., ve ark., *Fusobacterium nucleatum in Colorectal Carcinoma Tissue According to Tumor Location*. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 2016. **7**(11): p. e200.
190. Mager, D.L., ve ark., *The salivary microbiota as a diagnostic indicator of oral cancer: A descriptive, non-randomized study of cancer-free and oral squamous cell carcinoma subjects*. *Journal of Translational Medicine*, 2005. **3**: p. 27-27.
191. Guerrero-Preston, R., ve ark., *16S rRNA amplicon sequencing identifies microbiota associated with oral cancer, human papilloma virus infection and surgical treatment*. *Oncotarget*, 2016. **7**(32): p. 51320-51334.
192. Olson, S.H., ve ark., *The oral microbiota in patients with pancreatic cancer, patients with IPMNs, and controls: a pilot study*. *Cancer Causes Control*, 2017. **28**(9): p. 959-969.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı


**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 1115
Konu :
ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 08 KASIM 2016 SALI
Toplantı No : 2016/22
Proje No : GO 16/434 (Değerlendirme Tarihi : 13.07.2016)
Karar No : GO 16/434- 19

Üniversitemiz Kanser Enstitüsü Preventif Onkoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Ömer DİZDAR'ın sorumlu araştırmacı olduğu, Doç. Dr. Alpaslan ALP, Fatma Nur Akdoğan KITTANA ile birlikte çalışacakları ve Arş. Gör. Dr. Deniz Can GÜVEN'in Uzmanlık tezi olan, GO 16/434 kayıt numaralı ve **"Kolon Kanseri İle Tükürük Mikrobiyom İlişkisi"** başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

1. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU (Başkan)	10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye)
2. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Üye)	11 Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ (Üye)
İZİMLİ	
3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARA (Üye)	12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye)
4. Prof. Dr. Necdet SAGLAM (Üye)	13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye)
5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye)	14. Yrd. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye)
6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye)	15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye)
7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye)	16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye)
8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALCIN (Üye)	17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGELEN (Üye)
9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye)	18. Av. Meltem ONURLU (Üye)

Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
06100 Sıhhiye-Ankara
Telefon: 0 (312) 305 1082 • Faks: 0 (312) 310 0580 • E-posta: goetik@hacettepe.edu.tr

Ayrıntılı Bilgi için: