

Kolorektal Kanserdeki Biyobelirteçler

Aytekin AKYOL

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

GİRİŞ

Kanser; malign neoplazi olarak da tanımlanan, anormal hücrelerin klonal artışı ile karakterize heterojen bir hastalık grubudur. İnsanların beklenen yaşam süresinin uzaması ile birlikte kanser insidansı da artmaktadır. Hastalıkların mekanizmasının daha iyi anlaşılması ve biyomedikal bilimlerdeki gelişmeler sayesinde, her geçen gün daha fazla yeni tedavi ve önleyici tıp uygulaması klinik pratiğe girmektedir. Hastaya özel, değişik tedavi alternatiflerinden hangisinin seçilmesi gerektiği daha sık olarak gündeme gelmektedir. Aynı hastalık, farklı bireylerde çok farklı klinik seyir gösterebilmektedir. Bu sürecin önceden tahmin edilebilmesi, tedavi etkinliğinin belirlenebilmesi, istenmeyen yan etkilerin azaltılabilmesi, hastanın değerli ve kısıtlı zamanının boşa harcanmaması, kısaca hasta için optimal tedavi seçeneğinin öngörülebilmesinde kullanılan biyobelirteçlerin önemi artmıştır. Bu yazıda, kolorektal kanser üzerinden güncel tıp uygulamalarındaki değişim, biyobelirteç odaklı olarak ele alınmış, güncelden geleceğe doğru değişmekte olan tıp uygulamalarının perspektifi çıkarılmaya çalışılmıştır.

KANSER BİYOLOJİSİ VE TIBBİ UYGULAMALAR

Genetik mirasın yaklaşık yarısı anne, diğer yarısı ise babadan gelmekte olup insan hayatı sperm tarafından döllenmiş yumurta hücresinin (ilk hücre) oluşumu ile başlar. İntrauterin dönemde plasenta ve embriyo oluşumunu takip eden süreç sonrasında doğum gerçekleşir. İlk hücre bu süreçte hem bölünerek çoğalır, hem de bölünen hücreler farklılaşarak doku

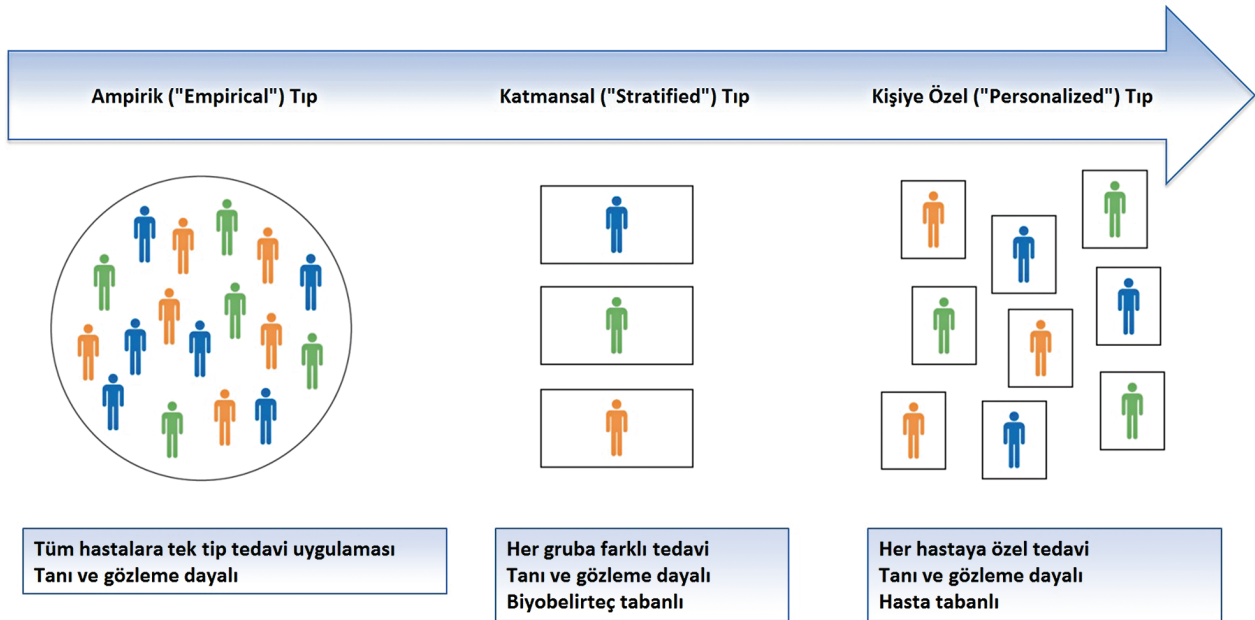
ve organ sistemlerini oluşturur. Erişkin insan vücudunda 100 trilyon hücre mevcut olup, bunların 10 trilyonu vücuttaki doku ve organlara aittir. 90 trilyonu ise vücudumuzda yer edinmiş (gastrointestinal kanal, solunum yolları, üriner sistem, deri vs. de) mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Canlılar için döllenmiş yumurta ile başlayan, doğum ile devam eden süreç, ölüm ile son bulur. Bu süreci kapsayan zaman dilimi canlı türlerine göre farklılıklar göstermekle birlikte her tür için ortalama bir yaşam beklentisi mevcuttur. Sıradışı durumlar dışında yaşlanmayla sağlık problemleri de artmaktadır. Kalp-damar hastalıkları ve neoplastik hastalıklar ölüm ile en fazla ilişkili olan hastalıklardır.

Neoplastik hastalıklar, benign (iyi huylu) ve malign (habis, kötü huylu) olmak üzere iki temel gruba ayrılır. Malign neoplazi (kanser), hayatı tehdit etmesi ve progresif (ilerleyici) seyirli olması nedeniyle önemli bir sağlık problemidir. Geleneksel olarak neoplastik hastalıkların sınıflaması tümörün histomorfolojisi, immünofenotipi, köken aldığı organ-hücre tipi (histogenez) ve klinik davranışına göre yapılır. Ancak aynı hücre tipi veya organdan köken alan kanser tipleri de kendi aralarında biyolojik olarak farklı davranış gösterebilir. Bu tür farklılıklar; **hasta, tümör ve uygulanan tedavi farklılıklarından** kaynaklanır. Klinisyenler için hastalığın nasıl seyreceğini öngörmelerine yarayan, tedavinin fayda/zarar oranını doğru olarak hesaplayabilecekleri biyobelirteçlerin önemi, giderek artmaya başlamıştır. Yeni tıbbi uygulamala-

rın tamamından ortaya çıkan; yeni bilgilerin oluşturduğu, biyobelirteçlerin yönlendirdiği, yeni tedavi alternatiflerinin geliştirilmesine ve uygulamalarının pratiğine **translasyonel tıp, moleküler tıp, kişiye özel (bireysel) tıp veya son olarak hassas ("precision") tıp** gibi farklı kavramlar altında isimlendirmeler yapılmaktadır (1). Ancak tüm bu kavramların altında yatan yaklaşım, ilk önce spesifik hastalıkları tek bir hastalık gibi değil de küçük alt gruplara biyobelirteçler yardımıyla ayırıp (katmansal tıp, "stratified medicine"), daha sonra uygun olan gruplara kritik özelliklerini hedefleyen tedavi yöntemleriyle tedavi etmektir (2). Pratik uygulamada bu süreç, genellikle tam ters şekilde olmaktadır. Yani, önce yeni bir tedavi geliştirilmekte, daha sonra da bu tedaviye yanıt veren veya vermeyen grubu ayıran biyobelirteçler tanımlanmaktadır. Sistemi besleyen ve genişleten, sağlık harcamalarındaki artış baskısını oluşturan süreç ise yeni tedavi alternatiflerinin genellikle pahalı olmasıdır. Maalesef, maliyeti düşük olan bu yaklaşımlar daha etkili olsalar bile, ticari kaygılar nedeniyle daha az sponsor ilgisini çekmektedir. Bu da yaygın kullanımlarını kısıtlamaktadır. Bu durum göz önüne alındığında, **akılcı olan, ucuz, etkin ve kamu yararına olacak yaklaşımların bizzat kamu tarafından desteklenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır**. Şu an katmansal tıp uygulamalarındaki dinamik gelişim, kişisel farklılıkların da

hesaba katılacağı, bireye özel tıp uygulamalarına doğru evrilmektedir (Resim 1). Birey merkezli yeni tıp uygulamalarında tedavi ve biyobelirteç, iki temel unsurdur. Biyobelirteçler hedef grubu tanımlamakta, tedaviler ise o grubu iyileştirmektedir (Resim 2). Bir başka kritik parça ise hastalıkların oluşmadan önlenmesi veya erken aşamada bulunarak etkin şekilde tedavi edilmesidir. Ancak tüm halkaları tamamlayabilmek için yeni ilaç ve yöntemlerin geliştirilmesi süreci de göz önünde bulundurulmalıdır. Yeni tanımlanan potansiyel ilaç adaylarının klinik değerlendirme çalışmalarından geçmesi gerekmektedir. Bu durumda, hızla artan adayların denenebilmesi için klinik araştırmaya katılacak gönüllü bireylerin de artması gerekmektedir. Bu nedenle klinik araştırmalara katılım sağlamak için toplumsal farkındalık yaratacak aktivitelerin organizasyonu da sürecin bir parçası olarak düşünülmelidir. Ayrıca bu süreci hızlandıracak ve maliyeti de düşürecek yaklaşımlar önem kazanmaktadır (3).

Sağlıklı olmanın değeri, genellikle sağlık kaybedildikten sonra anlaşıldığı için koruyucu sağlık uygulamaları konusunda toplumsal bilinç düzeyinin artırılması, problemlerinin ciddi bir konuma gelmeden engellenebilmesini sağlaması açısından oldukça önemlidir. Bu kapsamda, birinci strateji, hastalık açısından yüksek riskli grubun önceden belirlenerek hastalıkların oluşmadan önlenmesi yaklaşımıdır (risk değeri



*Willis JC ve Lord GM. Nat Rev Immunol. 2015 May;15(5):323-9'dan uyarlanmıştır.

Resim 1. Tıp uygulamasındaki kademeli değişim-dönüşüm.

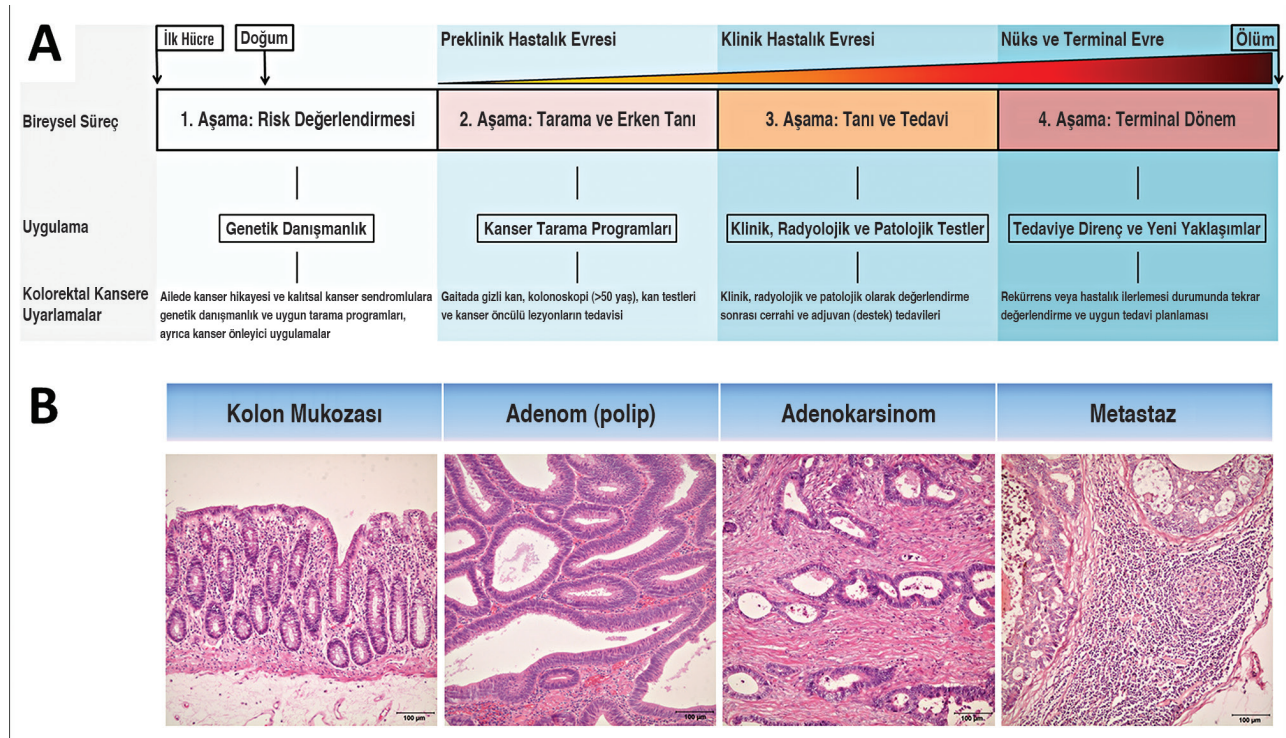


Resim 2. Kişiyeye özel (bireysel) tıp ve tedavi seçeneklerinin biyobelirteç odaklı belirlenmesi.

rilmesi ve önleme). Kalıtsal nedenler veya çevresel faktörlere maruziyetten dolayı, spesifik hastalıklara yatkınlık açısından toplumdaki bazı bireyler artmış, çoğunluk ortalama, bir kısmı ise azalmış risk grubundadır. Artmış risk grubundaki kişilerin belirlenmesi ve önleyici tıp uygulamalarının yaygınlaştırılması bu kapsamda ele alınmalıdır (sigara içen bireylerin sigarayı bırakması gibi). İkinci strateji ise klinik öncesi hastalık öncül lezyonlarının veya erken dönem hastalıkların tarama yöntemleri ile tanımlanarak, basit olarak tedavi edilmesidir (tarama programları; servikal sitoloji gibi). Eğer bu iki stratejide başarı sağlanamaz ise hastalıklar klinikte tanımlanarak uygun tedaviler verilmektedir. Klinik seviyede, kanser tedavisinde cerrahi, kemoterapi, radyasyon terapisi, hedefe yönelik tedavi ve immünoterapi gibi alternatifler mevcuttur. Zaman içerisinde bu tedaviler, spesifik olmayan sitotoksik kemoterapilerden spesifik moleküler hedeflere yönelen, etkinliği fazla, yan etkisi az olan tedavilere doğru değişim göstermektedir. Bu nedenle, doğru hastaya etkin tedavi alternatiflerinin verilebilmesi için biyobelirteçlerle tedaviye duyarlı olması beklenen hastalar seçilmektedir. Bu süreçte kademeli olarak hastaya özel tıbbi uygulamalara (doktor merkezli tıptan, hasta merkezli tıba) doğru değişim yaşanmaktadır. Yeni nesil tıp uygulamaları yüksek çıktılı yeni teknolojileri devreye sokarak, sağlık sistemine proaktif bir yaklaşım getirmektedir. Burada öncelikli hedef, süreci hastalıkların oluşmasını bekleyip sonrasında tedavi etmekten, **korunmaya doğru**, hastalık durumundan

da **genel iyi olma durumuna doğru dönüştürmektir**.

Bu yaklaşım kanser alanına uyarlandığında, ilk aşamada yapılması gereken, spesifik kanserler açısından çevresel ve kalıtsal nedenlerden dolayı yüksek risk grubundaki bireylerin biyobelirteçler yardımıyla tanımlanmasıdır. Daha sonra bu gruba etkin koruyucu yaklaşımların planlanarak uygulanması gerekmektedir. Kanser gelişimi genellikle uzun bir zaman diliminde gerçekleştiği için tarama programları ile preklinal olgular erken dönemde bulunarak daha etkin ve ucuz olarak tedavi edilebilir. Klinik hastalık öncesi dönemi kapsayan bu hayat diliminde kanser tarama ve erken tanı yöntemlerinin yaygınlaştırılması oldukça önemlidir. Klinik olarak tanı alan kanser olgularında ise tedavi ve takip süreçleri, geleneksel kanser sınıflandırmaları, biyobelirteç ve hastalığa özel tedavi uygulamaları üzerinden yeniden şekillenmektedir. Kanserler alt gruplara, özellikle yeni tedavilere cevap durumuna göre (hormon reseptörü pozitif veya negatif meme kanseri gibi) biyobelirteçler yardımı ile ayrılmaktadır. Kombine ilaç tedavileri ile yan etkiler azaltılıp, etkinlik artırılmaya çalışılmaktadır (4). Ayrıca ilaçların metabolizmasında rol oynayan enzimlerin aktivite durumlarına göre doz değişiklikleri (farmakogenetik biyobelirteçler sayesinde) yapılabilmektedir. Son evre veya terminal aşamadaki kanser hastaları için ayrıca geniş çaplı bir değerlendirme ve planlama yapılması gerekmektedir (Resim 3).



Resim 3. A. Birey odaklı yaşamsal süreç, tıbbi uygulamalar ve kolorektal kansere uyarlamalar. **B.** Normal kolon mukozasından adenom-karsinom gelişimi ve lenf nodu metastazi.

BİYOBELİRTEÇLER

Biyobelirteç kavramı geniş anlamda Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından “**vücut örnekleri veya ürünlerinde ölçülebilen, hastalık veya akıbet ile ilgili etki veya insidansların tahmin edilebilmesinde kullanılan herhangi bir madde, yapı ya da süreç**” olarak tanımlanmıştır (5). Biyobelirteçler; (a) risk değerlendirilmesi/yatkınlık, (b) tarama/erken tanı, (c) tanısal, (d) farmakolojik, (e) tahmin ettirici (“predictive”) ve (f) prognostik biyobelirteçler gibi farklı alt gruplara ayrılmaktadır. Klinik olarak kullanılmakta olan çok miktarda biyobelirteç bulunmaktadır. Bu biyobelirteçlerin geliştirilme süreçleri ilaç geliştirme süreçleriyle benzerdir. Öncelikle yeni biyobelirteç keşfi için ihtiyacın olması gerekmektedir. İhtiyaç sonrası tanımlanan aday biyobelirteç için uygun prosedür ve yöntem belirlenir. Tanımlanan bu biyobelirteç ve yöntem, hedef toplulukta uygun alt gruplar oluşturmalıdır. Daha sonra geniş retrospektif serilerde sorguladıkları durum açısından doğru tahmin etme ve yanılma oranları açısından test edilirler. En son olarak da randomize prospektif çalışmalar ile klinik kullanımdaki etkinlikleri değerlendirilir (6).

Toplumda belli bir kanser türüne yatkınlığı olan yani yüksek riskli bireylerin tanımlanması, çevresel karsinojenlere maruziyetin önlenmesi, erken tanı için tarama programları, etkin tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi hayati önem arz etmektedir (7). Özellikle kanser biyolojisinin daha iyi anlaşılması, postgenomik dönemin sunduğu yeni teknolojiler ve farklı tedavi seçeneklerinin ortaya çıkması hastaların hangi aşamada, nasıl tedavi edilmesi gerektiğine dair her geçen gün, yeni algoritmaların oluşturulmasını zorunlu hale getirmektedir. **Artık klinik ve fenotipik bulgular** dışında hasta ve hastalık ile ilgili olarak geniş çıktılı verilerin elde edilebileceği **genomik** (tüm DNA düzeyinde), **transkriptomik** (tüm RNA düzeyinde), **proteomik** (tüm protein düzeyinde) ve **metabolomik** (metabolizma ilişkili) incelemeler yapma olanağı mevcuttur. Tüm bu incelemelerin yapılabilmesi için uygun örnekleme ve saklamaların yapılması, etik izinlerin alınarak hastaların bu konuda bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Hastalık tanı ve tedavi süreçlerinin çok aşamalı olması, farklı kliniklerin bu süreçte birlikte çalışmasını gerektirmektedir. Bu

Tablo 1. Kolorektal kanserlerin temel özellikleri

• İleri yaşlarda görülme insidansı belirgin olarak artar (> 50 yaş).
• Genellikle öncül adenomatöz poliplerden köken alırlar.
• Kolonoskopi ile erken tanı ve öncül adenomatöz poliplerin eksizyonu mümkündür.
• Genetik yatkınlık ve ailede KRK hikayesi olanlarda erken yaşlarda KRK'ler gelişebilir.
• Etkilenen segmentin cerrahi rezeksiyonu , temel tedavi yaklaşımıdır.
• İleri evre olgularda adjuvan tedavi yaklaşımları mevcuttur.
• Yeni tedavi alternatiflerinin kullanıma girmesiyle histolojik biyobelirteçlere ek olarak moleküler ve genetik biyobelirteçler de giderek önem kazanmaktadır.

KRK: Kolorektal kanser.

nedenle birimler arası koordinasyonun sağlanması, biyolojik materyallerin her aşamada ortak kullanılabilmesi için merkezi biyobankalar tarafından saklanması, en uygun çözüm olarak görülmektedir. Sağlık kurumlarında biyobankalamanın önemi ve ihtiyacı her geçen gün artmaktadır. Biyobankaların işleyişi ve kişisel genetik verilerin korunması ile ilgili hem hukuksal hem de uygulama anlamında yeni yasal düzenlemelerin yapılması gerekmektedir. Hastaya özgün tedavi seçenekleri (bireysel kanser tedavisi, bireysel tıp) her geçen gün artmakta ve klinik öncül uygulamalar da yavaş yavaş kliniğe girmektedir. Bu uygulamalarda hasta ve tedavi seçenekleri arasındaki en kritik dinamik değişken hastalık hakkında bilginin alındığı tanısal kısımdır. Hastadan temin edilen biyomateriyallerden çalışılacak biyobelirteç profillemeler doğru hastada, doğru tedavinin uygulaması için hayati önem arz etmektedir. Bu noktada elde edilen verilerin fonsiyonel testlerle deneysel olarak çalışılması, klinik öncesi hayvan hastalık modellerinde de test edilmesi gerekmektedir. Bu sayede hassas olarak ölçülebilen ve süreç ile ilgili önceden fikir veren yeni biyobelirteçler geliştirilebilecektir. Bu sayede duyarlılık tayini yapılarak, her geçen gün artan tedavi alternatiflerinden en uygununun seçilmesi optimal olarak yapılabilecektir (Resim 2).

KOLOREKTAL KANSERLER

Kanserler genellikle vücut yüzeylerini döşeyen epitel hücrelerinden köken alırlar. Kolorektal kanserler (KRK) kolorektal mukozadaki epitel hücrelerinden köken alan, genellikle adenokarsinom morfolojisindeki karsinomlardır. Kolorektal kanserler kanser ilişkili hastalık ve ölümlerin önemli bir sebebidir. Bu kanserler, genellikle ileri yaş hastalığı olup insidansı, yaşla belirgin olarak artar (**> 50 yaş**). Tümörler çoğunlukla öncül adenomatöz poliplerden köken aldıkları için kolonoskopi ile erken tanı ve erken evre olgularda tedavileri mümkündür. Ge-

netik yatkınlık ve ailede KRK hikayesi olanlarda erken yaşlarda KRK gelişebilir. Temel tedavi stratejisi etkilenen segmentin cerrahi rezeksiyonudur. İleri evre olgularda cerrahiye ek olarak adjuvan kemoterapi ve yeni tedavi yaklaşımları mevcuttur (Tablo 1). Adjuvan tedavide kullanılan kemoterapi ajanları 5-fluorourasil (5-FU), irinotekan, oksaliptatin, anti vasküler endotelial büyüme faktörü (Anti-VEGF) (bevacizumab, aflibercept, regorafenib) ve anti epidermal büyüme faktörü reseptörü (Anti-EGFR) (cetuximab, panitumumab, K-RAS mutasyonlu olgularda endike değil) gibi ilaçlardır (Tablo 2) (8).

KRK'ler genellikle ileri yaşlarda görülmektedir; ancak genç erişkinler de bu hastalıktan etkilenebilir. KRK'ler temelde sporadik ve kalıtsal kanser sendromu ilişkili form olarak iki ayrı gruba ayrılabilir. Sporadik formdaki KRK'ler 6-7. dekalarda görülmektedir. Hastaların yaklaşık %95'i bu gruptadır. Bu tümörler genellikle öncül adenomatöz poliplerden köken

Tablo 2. Kolorektal kanserlerin tedavisinde kullanılan yöntem ve ajanlar

Eksizyon
Endoskopik mukozal rezeksiyon
Cerrahi rezeksiyon
Kemoterapötikler
5-FU
Irinotekan
Oksaliptatin
Hedefe Yönelik Ajanlar
Anti-EGFR; cetuximab, panitumumab
Anti-VEGF; bevacizumab, aflibercept, regorafenib
Diğer Alternatifler
Radyoterapi
İmmünoterapi

5-FU: 5-fluorourasil. EGFR: Epidermal büyüme faktörü reseptörü. VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü.

aldıkları ve uzun zaman sürecinde oluştukları için kolonoskopik taramalarda bu tümörlerin erken tanı ve tedavileri mümkündür. Adenomatöz poliplerden karsinoma dönüşüm sürecinde pek çok genetik ve epigenetik değişiklikler rol almaktadır. Genetik olarak, protoonkogenleri aktive eden, tümör baskılayıcı genlerin ise fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlar, bu süreçte oldukça önemlidir. Özellikle son zamanlardaki hızlı ve yüksek çıktılı sekanslamalarla (tüm egzom ve genom sekanslamaları) çok sayıda yeni somatik mutasyonlar tanımlanmaktadır. Bu somatik mutasyonların bir kısmı, kilit mutasyonlar olmakla beraber çoğu karsinogenez sürecinde kritik rol oynamamaktadır. Ancak son zamanlarda kritik olmayan mutasyonların da tümör heterojenitesi açısından önemli olabileceği ve tedaviye direnç gelişiminde rol alabileceği tartışılmaktadır (9).

Karsinogenez sürecindeki mutasyonlar, temel olarak etkilenen genin fonksiyonunu arttıran veya fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlar diye iki gruba ayrılabilir. Tümör biyolojisini anlayabilmek için spesifik kanserde tanımlanan mutasyonların genele nasıl etki ettiğine bakmak gerekmektedir. Temelde bu konuyu açmak gerekirse, bu mutasyonların etkilediği genlerin hangi sinyal yollarının bozulmasına sebep olduğuna ve bunun dokudaki anlamının çözümüne bakmak gerekir (10). KRK'ler hücre çoğalması, farklılaşması, metabolizması ve ölümünü düzenleyen sinyal yollarında görev alan genlerde meydana gelen genetik ve epigenetik bozuklukların birikmesi sonucunda gelişirler (11). Spesifik olarak bakılırsa bu süreçte rol alan kritik yollar Wnt, TGF, P53, PIK3 ve RTK-RAS yollarıdır (12). Genetik olarak en sık etkilenen genler ise APC, KRAS, P53, BRAF, PIK3CA, SMAD4, ARIAD1A ve FBXW7 gibi genlerdir (13). Ancak bu veriler kümlatiftir. Tek bir sporadik kolon kanser olgusu için hangi kombinasyon ve sıralamanın peşpeşe geldiği daha halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Tek bir kanserin anlaşılması önemlidir; çünkü farklı olan her bir kanseri anlamak demek, o hastanın problemini anlamak demektir. Bu sayede kanserdeki moleküler değişiklikler bulunarak, bozulan mekanizmaya göre tedavi planlanıp, daha etkin tedavilerin uygulanması mümkün olacaktır. Bu kapsamda KRK olgularında hem geleneksel hem de moleküler çalışmalarla, bir kısmı deneysel biyobelirteçler tanımlanmıştır. KRK'lerde histomorfolojik [tümör, nod, metastaz (TNM) evresi, lenfovasküler and perinöral tutulum, tümör tomurcuklanması, radyal cerrahi sınır, tümör regresyon derecesi, "grade" (derece) ve histolojik tip]

ve moleküler biyobelirteçler (MSI, p53, 18q, BRAF, KRAS, NRAS) mevcuttur. Ayrıca detaylı moleküler profillemeler ile farklı alt tipleri (CIN, MSI, CIMP veya kök hücre benzeri, inflamatuvar, transient amplifiye - Cetuximab dirençli, transient amplifiye - Cetuximab duyarlı, goblet benzeri ve enterosit benzeri gibi) ortaya konmuştur (13). Son olarak moleküler sınıflamada konsensus grupları (dört farklı alt tip) tanımlanmıştır (14).

Kolorektal kanserler, genç bireylerde de görülebilmektedir. Bu kanserler genellikle kalıtsal veya ailesel formdaki tümörlerdir. Kalıtsal kanserler, spesifik veya farklı bir grup kansere yatkınlığı arttıran, genetik olarak etkilenen tümör baskılayıcı gende "germline" mutasyonun varlığı ile karakterize sendromik olgularda izlenirler. "Germline" mutasyonlar gonadlardaki eşey hücrelerinde (sperm ya da ovum) yeni ortaya çıkan veya mevcut olan mutasyonlardır. Bu genler genellikle tümör baskılayıcı genler olup karsinogenezde fonksiyon kaybına uğrarlar. Sendromlu hastalarda alellerden birisinde "germline" mutasyon mevcuttur (Resim 4). Kalıtsal kolorektal tümörlerle ilişkili sendromlar; Familiyal Adenomatöz Polipozis (FAP), Herediter Non-Polipozis Kolorektal Kanser Sendromu (HNPCKS, Lynch), MUTYH ilişkili Polipozis, Mikst Polipozis Sendromu ve Hamartomatöz Polipozis Sendromlarıdır (15). Sendromik hastalarda, KRK gelişimi sporadik olgulara göre daha erken yaşlarda görülmektedir. Hastanın klinik bulguları, tümörün histomorfolojik özellikleri ve genetik testlerle etkilenen hastalarda spesifik sendromun tanısını koymak mümkündür. Etkilenen genin ve mutasyonun bulunması aile bireylerinin genetik olarak taranmasında da oldukça önemlidir. Çünkü, bu referans olgudan yola çıkılarak genetik taramalarla "germline" mutasyonu taşıyan akraba bireyleri tanımlamak mümkündür. Hastalık açısından yüksek riskteki bu taşıyıcı bireylerin uygun koruyucu ve tarama programlarına daha önce alınmaları sayesinde hastalık oluşmadan önlenilecek veya erken aşama yakalanabilecektir. Bu sayede hastalığın sebep olacağı mortalite ve morbititeler azaltılacaktır. Araştırmalar, kalıtsal ve sporadik formdaki KRK'in gelişim mekanizmaları hakkında kritik mutasyonları da tespit etmiştir. Bu mutasyonlar genellikle iki ayrı KRK gelişim yolağının varlığını göstermektedir. Bu yollar ve sebep oldukları sendromlar aşağıdaki gibidir:

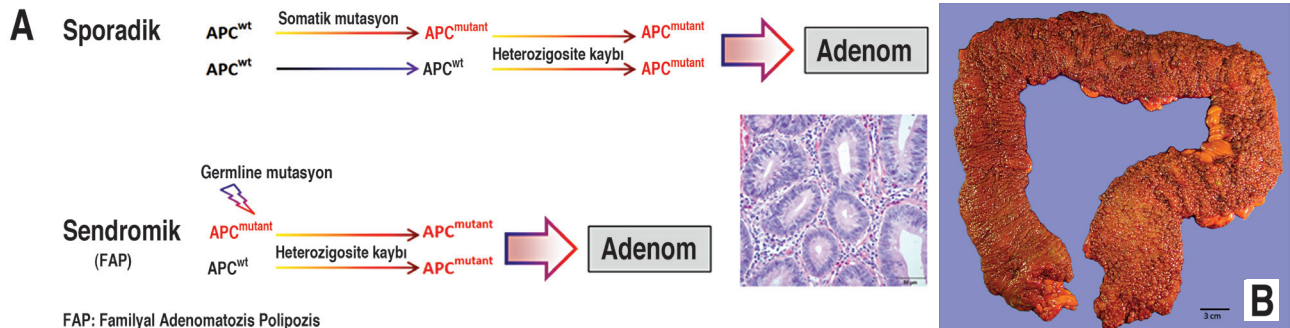
- a. Klasik yolak (adenom-karsinom), sendromik formu; Familiyal Adenomatöz Polipozis (FAP).

b. “Serrated” [mikrosatellit instabil-MSİ veya DNA hatalı eşleşme (mismatch) tamir mekanizması bozukluğu içeren (dMMR) grup] yolak, sendromik formu; Herediter Non-Polipozis Koli Kanseri (HNPCK, Lynch) Sendromu (12).

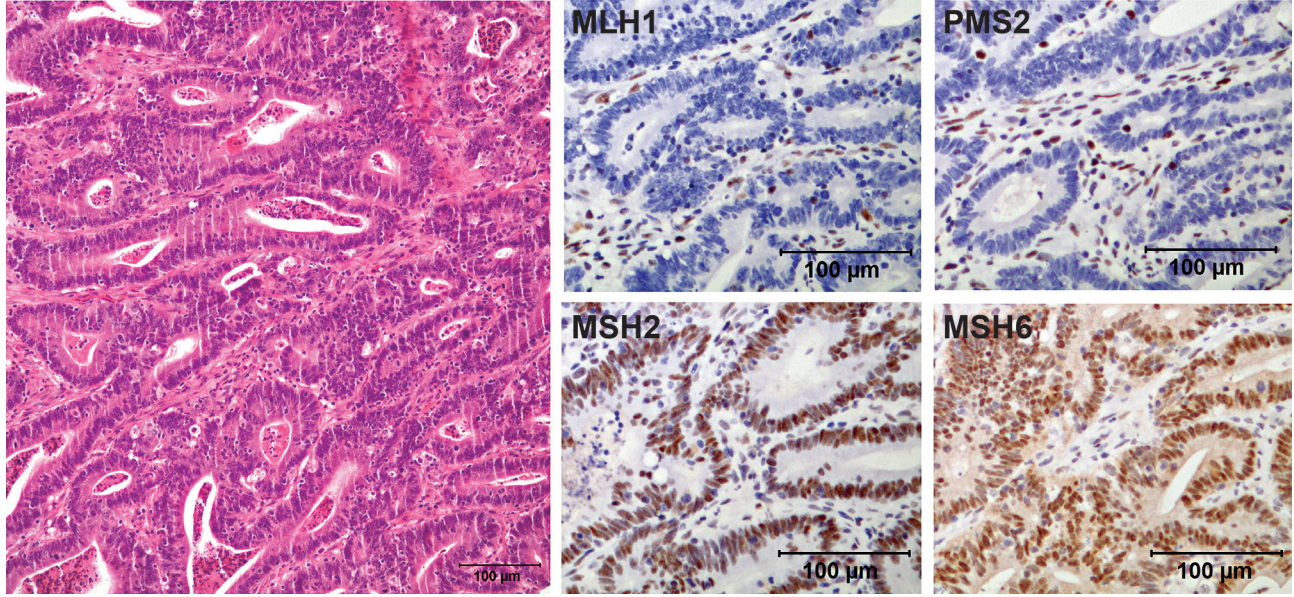
KRK’nin büyük çoğunluğu, sporadik olarak gelişim göstermekte ve klasik yoldan köken almaktadır. Bu olgular genellikle erken dönemde APC genindeki fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlar ile başlamaktadır. Bu mutasyon, Wnt yolak aktivasyonuna ve beta-catenin nükleer birikimine neden olarak adenom gelişmesine sebep olmaktadır. Ancak bu genetik değişiklik tek başına KRK oluşabilmesi yeterli değildir. Ayrıca diğer genetik ve epigenetik bozuklukların da hücre seviyesinde birikmesi gerekmektedir. Klasik yolda önemli olan APC geninin “germline” mutasyonu Familial Adenomatöz Polipozis (FAP) Koli sendromuna neden olmaktadır. Özellikle kalıtsal kanserlerde genotip / fenotip arasındaki ilişki, her zaman paralel değildir. Bu ilişki penetrans kavramıyla açıklanmaktadır. Bazı sendromlar, Familial Adenomatöz Polipozis Koli’de olduğu gibi, yüksek penetranslıdır ve fenotipik özellikleriyle klinik olarak tanımlanabilmektedir. Etkilenen bireylerde erken yaşlarda çok sayıda kolon polipi izlendiği için profilaktik total kolektomi yapılmaktadır (Resim 4) (15).

HNPCK (Lynch) sendromu ilk başta klinik olarak farkedilmiştir (16,17). Sonrasında bu hastaların tümörlerinin mikrosatellit instabilite (MSİ-H) içerdikleri saptanmıştır (18). Ancak mikrosatellit instabil kanserlerin de sporadik ve sendrom ilişkili formları vardır. MSİ’ye neden olan mekanizma, temelde DNA hatalı eşleşme tamir (“mismatch repair”) mekanizmasından sorumlu proteinlerin kaybıdır. Sendromik formda, bu proteinleri kodlayan genlerde “germline” mutasyon mev-

cuttur. Sporadik formda ise MLH1 geninin promotor hipermetilasyonuna bağlı olarak ifade kaybı, KRK gelişiminde rol almaktadır. Fenotipik ve histomorfolojik olarak sendromik ile sporadik olguların ayırımı yapmak mümkün değildir. Bu nedenle klinik, patolojik ve genetik biyobelirteçler tanımlanmıştır (19). Sendromik hastaları klinik olarak tanımlayabilmek için Amsterdam ve Bethesda kriterleri mevcuttur (20). Patolojik olarak MSİ-H kanserler tipik bazı histomorfolojik özellikler içermekte olup genellikle sağ kolon yerleşimlidir. Mikrosatellit instabilite, genetik olarak MSİ paneli ile (mikrosatellit bölgeleri hedefleyen primerler), normal doku ve tümörden elde edilen DNA örneklerinden polimerize zincir reaksiyonu ile çoğaltılan amlikonların karşılaştırılması ile değerlendirilir. Bu test dışında immünohistokimyasal olarak DNA hatalı eşleşme tamir proteinleri (MLH1, PMS2, MSH2 ve MSH6; dörtlü immünohistokimya paneli) kanserli dokuda çalışabilmektedir. İmmünohistokimya ile kanser hücrelerinde pozitif nükleer boyanma veya kayıp izlenebilir (Resim 5). Bu iki test, MSİ olguları tanımlamak için kullanılmakla beraber genellikle sendromik ile sporadik olguları, özellikle immünohistokimyasal olarak MLH1’de kayıp izlenen durumlarda yapamamaktadır. Bu durumda, MLH1 promotor hipermetilasyonu ve BRAF mutasyonu sporadik ile sendromik olguların ayırımında kullanılan faydalı biyobelirteçlerdir (6). HNPCK sendromu klinik kriterleri karşılayan hastalara (Bethesda) MSİ testi yapılması önerilmektedir (Tablo 3) (20). Ancak son zamanlarda yurtdışındaki kliniklerde tüm yeni tanı olgularında MSİ testi ve/veya dörtlü immünohistokimya paneli rutin olarak uygulanmaktadır. Bu algorithmada HNPCK sendromu ilişkili olabilecek olgular belirlenmekte ve hastalara genetik



Resim 4. A. APC tümör baskılayıcı geninin inaktivasyonu; sporadik ve sendromik kolorektal kanserler için tipik adenom oluşum mekanizması. **B.** Familial adenomatöz polipozis (APC) koli sendromlu 22 yaşındaki kadın hastanın profilaktik total kolektomi spesmeninin makroskopik görünümü.



Resim 5. Kolon adenokarsinomu (DNA hatalı eşleşme tamir mekanizması bozukluğu içeren); dördümlü immünohistokimyasal panelde MLH1 ve PMS2 ile nükleer kayıp mevcut, stromal hücreler pozitif, MSH2 ve MSH6 ile ise neoplastik hücrelerde nükleer pozitif boyanma izlenmekte olup kayıp mevcut değil.

Tablo 3. Bethesda tanı rehberine göre kolorektal tümörlerde MSI varlığının test edilmesi, aşağıdaki kriterleri gerektirir.

1. Hastanın kolorektal kanser teşhisini 50 yaşın altında alması,
2. Yaştan bağımsız olarak, senkron veya metakron kolorektal veya diğer Lynch sendromu ilişkili tümörlerin ¹ varlığı,
3. MSI-yüksek ² histolojili ³ kolorektal kanserin 60 yaşın altındaki bir hastada teşhis edilmesi ⁴ ,
4. Kolorektal kanser veya Lynch sendromu ilişkili tümörlerin ¹ 50 yaşın altındaki en az bir tane birinci derece akrabada teşhis edilmesi ⁵ ,
5. Kolorektal kanser veya Lynch sendromu ilişkili tümörlerin ¹ herhangi bir yaştaki iki tane birinci ya da ikinci derece akrabada teşhis edilmesi ⁵ .

¹Lynch sendromu ilişkili tümörler; kolorektal, endometriyum, mide, yumurtalık, pankreas, üreter veya renal pelvis, safra kanalları ve beyin tümörleri (genellikle glioblastom), sebace bez adenomu ve Muir-Torre sendromunda keratoakantomlar, ince bağırsak karsinomunu içerir.

²Tümörlerde MSI yüksekliği, ABD Ulusal Kanser Enstitüsü'nün önerdiği beş mikrosatellit belirteç panelinin iki ya da daha fazlasındaki değişimlere karşılık gelir.

³MSI-yüksek histolojisi; tümöre nüfuz eden lenfositlerin varlığına, Crohn hastalığı benzeri lenfositik reaksiyona, müsinöz ya da "taşlı yüzük" farklılaşmasına veya medüller büyüme şekline karşılık gelir.

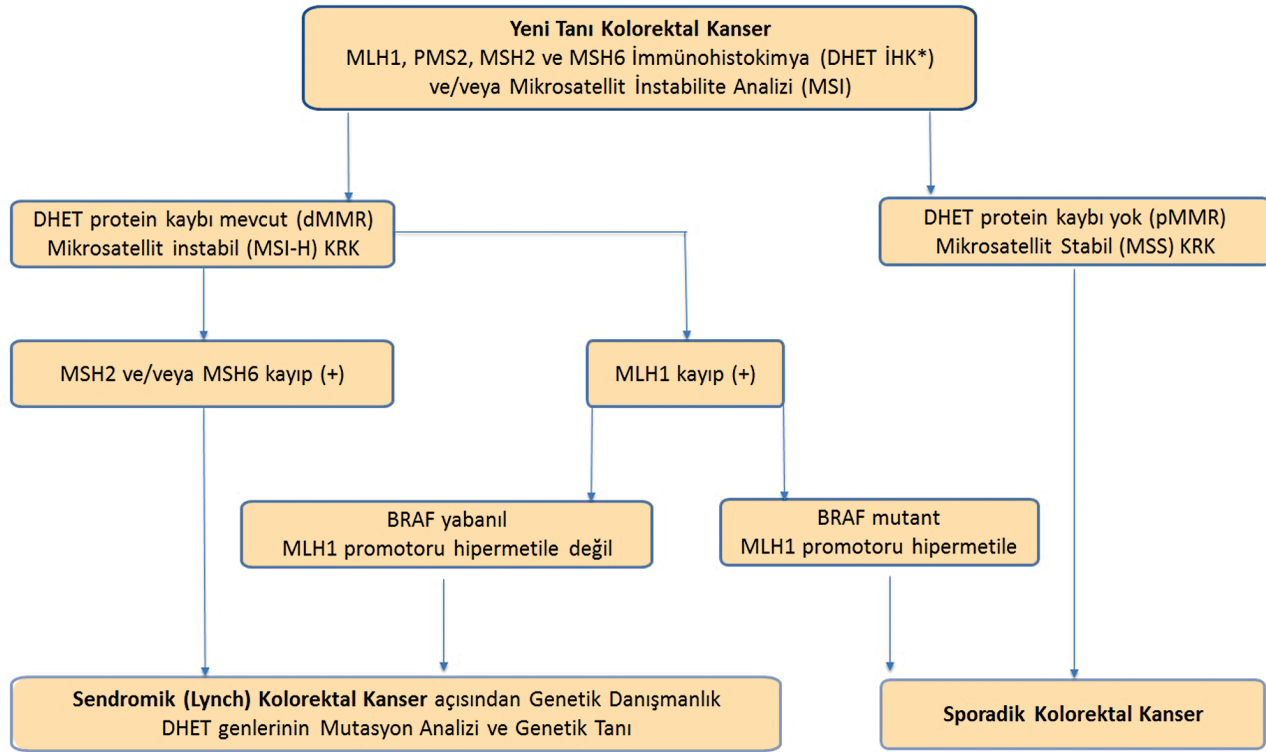
⁴Çalıştay katılımcıları arasında üç numaralı tanı kriterinde yaş ölçütünü bulundurup bulundurmama konusunda görüş birliği sağlanamamıştır; katılımcılar "60 yaşın altında" ölçütünü bulundurmaya devam etme yönünde oy kullanmışlardır.

⁵Dördüncü ve beşinci kriterler, Revize Bethesda Tanı Rehberi'ni daha anlaşılır kılmak için farklı bir dille ifade edilmiştir.

danışmanlık verilmektedir (21,22). Genetik danışmanlık sonrası ayrıca isteyen bireylere genetik testlerle kesin tanı konulabilmektedir (Resim 6).

KRK için tarama/erken tanı açısından kullanılan biyobelirteçler, ortalama risk grubu için 50 yaşında kolonoskopidir. Ayrıca gaitada gizli kan da bakılabilmektedir. Tarama programları, artmış risk grubundaki bireylerde (polipozis sendromlu veya aile KRK hikayesi olan olgularda) daha erken yaşlarda başlamalıdır. Tanısal biyobelirteç olarak serum ve kan örneklerinde

karsino embriyonik antijen (CEA) ve sirkülasyondaki nükleik asitler çalışılabilmektedir. Farmakolojik biyobelirteç açısından kolorektal kanserlerde kullanılan irinotekan ajanının toksisitesini belirlemek için UGT1A1*28 homozigot allel bakılmaktadır. Homozigot allel içeren hastalarda artmış toksisite belirlendiğinden dolayı bu hastalarda daha düşük doz irinotekan kullanılmalıdır. KRK'lerde kullanılan tahmin ettirici ("predictive") biyobelirteçler anti-EGFR tedavisine yanıtı etkileyen KRAS ve BRAF mutasyonlarının test edilmesidir (6). Ayrıca DNA hata



* DNA Hatalı Eşleşme Tamir (DHET) Proteinlerinin (MLH1, PMS2, MSH2 ve MSH6) İmmünohistokimyasal Analizi, dörtlü İHK paneli.
Newton KF, Newman W, Hill J. Colorectal Dis. 2012;14(1):3–17'dan uyarlanmıştır.

Resim 6. Yeni tanı kolorektal kanser tanısı alan olgularda HNPCK (Lynch) Sendromu tarama algoritması.

eşleşme tamir mekanizması gösteren (“defective mismatch repair”, dMMR) KRK’li hastalar 5-FU adjuvan tedavisinden fayda görmedikleri gibi aksine ilacın yan etkilerinden dolayı zarar görmektedir. Bu nedenle adjuvan tedavi verilecek hastalarda tedavinin planlanması açısından MSI veya dMMR durumunun belirlenmesi oldukça önemlidir (23). Prognostik biyobelirteçler açısından bakıldığında en önemli değişken, hastalığın evresidir. Erken evre olgularda prognoz oldukça iyidir; ancak Evre IV olgularda bu durum çok iç açıcı nitelikte değildir. Ayrıca KRAS, BRAF ve MSI de bağımsız prognostik belirteçler olarak tanımlanmıştır (Tablo 4) (6).

Kolorektal kanser biyolojisindeki temel bilgilerin artması, kansere karşı yeni tanı ve tedavi stratejilerini de beraberinde getirmiştir. Yakın gelecekte daha da çoğalacak olan tedavi alternatiflerinin ve önleyici tıp uygulamalarının akılcı olarak kullanılabilmesi için pekçok farklı biyobelirteçler tanımlanarak rutin uygulamaya girmektedir. Biyobelirteçler sayesinde toplumdaki yüksek riskli bireyler tanımlanabilmekte olup hastalık daha oluşmadan koruyucu önlemler alınabilmektedir. Ayrıca tarama programlarıyla, erken evre olgular buluna-

Tablo 4. Kolorektal kanserlerdeki biyobelirteçler.

A. Risk değerlendirilmesi/yatkınlık biyobelirteçleri
Aile hikayesi
Kalıtsal kanser sendromu tanısı
B. Tarama/erken tanı biyobelirteçleri
Gaytada gizli kan
Kolonoskopi
C. Tanısal biyobelirteçler
CEA
Sirkülasyondaki nükleik asitler
D. Farmakolojik biyobelirteçler
UGT1A*28 genotipleme
Dihidropirimidin dehidrogenaz polimorfizmi
E. Tahmin ettirici (“predictive”) biyobelirteçler
DNA hatalı eşleşme tamir mekanizması bozukluğu ve MSI
KRAS ve B-RAF mutasyonu
F. Prognostik biyobelirteçler
TNM evresi
DNA hatalı eşleşme tamir mekanizması bozukluğu ve MSI
KRAS ve B-RAF mutasyonu

CEA: Karsinoembriyonik antijen. TNM: Tümör, nod, metastaz.

rak etkin olarak tedavi edilmektedir. İleri evre hastalarda ise biyobelirteçlerle yönlendirilen, etkinliği daha fazla, yan etkisi daha az olan tedavi protokolleri geliştirilerek kanser hastalarının sağkalımı ve hayat kalitesi her geçen gün artmaktadır.

Teşekkür: Bu yazının hazırlanması sırasındaki desteklerinden dolayı Sarp Uzun ve Gülce Küreli'ye, yazıyı değerli vakitlerini ayırarak okuyup öneri sunan Sevil Bilgin ve Prof. Dr. Nuhan Puralı'ya teşekkür ederim.

Bu çalışma Doç. Dr. Aytekin Akyol'un yürütücüsü olduğu TÜBİTAK 1001 programı, 113S985 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Collins FS, Varmus H. A new initiative on precision medicine. *N Engl J Med*. 26 Şubat 2015;372(9):793–5.
2. Willis JCD, Lord GM. Immune biomarkers: the promises and pitfalls of personalized medicine. *Nat Rev Immunol*. Mayıs 2015;15(5):323–9.
3. de Bono JS, Ashworth A. Translating cancer research into targeted therapeutics. *Nature*. 30 Eylül 2010;467(7315):543–9.
4. Sawyers CL. The cancer biomarker problem. *Nature*. 03 Nisan 2008;452(7187):548–52.
5. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. Kasım 2010;5(6):463–6.
6. Newton KF, Newman W, Hill J. Review of biomarkers in colorectal cancer. *Colorectal Dis Off J Assoc Coloproctology G B Irel*. Ocak 2012;14(1):3–17.
7. Caskey CT, Gonzalez-Garay ML, Pereira S, McGuire AL. Adult Genetic Risk Screening. *Annu Rev Med*. 2014;65(1):1–17.
8. Ciombor KK, Wu C, Goldberg RM. Recent Therapeutic Advances in the Treatment of Colorectal Cancer. *Annu Rev Med*. 14 Ocak 2015;66:83–95.
9. Almendro V, Marusyk A, Polyak K. Cellular heterogeneity and molecular evolution in cancer. *Annu Rev Pathol*. 24 Ocak 2013;8:277–302.
10. Fearon ER. Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. *Science*. 07 Kasım 1997;278(5340):1043–50.
11. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA Jr, Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *Science*. 29 Mart 2013;339(6127):1546–58.
12. Fearon ER. Molecular genetics of colorectal cancer. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:479–507.
13. The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 19 Temmuz 2012;487(7407):330–7.
14. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, vd. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. Kasım 2015;21(11):1350–6.
15. Rustgi AK. The genetics of hereditary colon cancer. *Genes Dev*. 15 Ekim 2007;21(20):2525–38.
16. Lynch HT, Snyder CL, Shaw TG, Heinen CD, Hitchins MP. Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nat Rev Cancer*. 12 Şubat 2015;
17. Boland CR, Lynch HT. The History of Lynch Syndrome. *Fam Cancer*. 02 Nisan 2013;
18. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*. Haziran 2010;138(6):2073–87.e3.
19. Moreira L, Balaguer F, Lindor N, de la Chapelle A, Hampel H, Aaltonen LA, vd. Identification of Lynch Syndrome Among Patients With Colorectal Cancer. *JAMA*. 17 Ekim 2012;308(15):1555.
20. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, vd. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst*. 18 Şubat 2004;96(4):261–8.
21. Heald B, Plessec T, Liu X, Pai R, Patil D, Moline J, vd. Implementation of universal microsatellite instability and immunohistochemistry screening for diagnosing lynch syndrome in a large academic medical center. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 01 Nisan 2013;31(10):1336–40.
22. Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, Burt RW, vd. Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome: a consensus statement by the U.S. Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastrointest Endosc*. Ağustos 2014;80(2):197–220.
23. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, vd. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 Temmuz 2010;28(20):3219–26.