TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

RUTİN TEDAVİ OLARAK BEVACİZUMAB KULLANILAN METASTATİK KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALARDA TEDAVİ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİNDE BİYOBELİRTEÇLERİN ROLÜ

Dr. Büşra AKAY HACAN
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Hakan AKBULUT

Ankara
2018

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

RUTİN TEDAVİ OLARAK BEVACİZUMAB KULLANILAN METASTATİK KOLOREKTAL KANSERLİ HASTALARDA TEDAVİ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİNDE BİYOBELİRTEÇLERİN ROLÜ

Dr. Büşra AKAY HACAN
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Hakan AKBULUT

Ankara
2018

Düzenleme tarihi: 24/12/2014

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Dr. Büşra AKAY HACAN	**Sınav tarihi:** 06 /08 / 2018
Anabilim/Bilim Dalı	: İç Hastalıkları A.B.D.	
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Hakan AKBULUT	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER			
Tezin Başlığı: Rutin Tedavi Olarak Bevacizumab Kullanılan Metastatik Kolorektal Kanserli Hastalarda Tedavi Etkinliğinin Belirlenmesinde Biyobelirteçlerin Rolü			
Tezin Niteliği:	☑ Ana Dal Uzmanlık Tezi	☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi	
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☐ 1	☑ 2	☐ 3

III. KARAR

Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak

☑ Kabulüne

☐ Reddine

☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine

☑ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR

Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

Prof.Dr.Hakan AKBULUT
Jüri Başkanı
Tez Danışmanı
Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı

Prof.Dr.Mehmet BEKTAŞ
Jüri Üyesi
Gastroenteroloji Bilim Dalı

Doç.Dr.Mehmet Ali Nahit ŞENDUR
Jüri Üyesi
Yıldırım Beyazıt Üniversitesi
Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan, akademik kişiliği yanında insani yönleriyle örnek aldığım değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Hakan AKBULUT'a,

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı süresince her zaman ulaşılabilir ve anlayışlı olan hocamız Prof. Dr. Ahmet DEMİRKAZIK'a,

Tezimin hasta bulma sürecindeki aşamalarıyla yakından ilgilenen Tıbbi Onkoloji B.D öğretim üyeleri Doç. Dr. Ülkü YALÇINTAŞ ARSLAN'a, Prof. Dr. Mehmet ARTAÇ'a, ve Doç. Dr. Mehmet Ali ŞENDUR'a,

Tezime maddi destek verdiklerinden ötürü Türk Onkoloji Grubu Derneği'ne, Ankara Tıplılar Derneği'ne, TÜBİTAK'a,
Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No: 114S496).

Bu zamana kadar eğitimime destek veren tüm hocalarıma,

Uzmanlık eğitimim süresince çok şey paylaştığım değerli dostlarım Dr. Olgu Nur DERECİ ve Elmas GÜL'e ve tüm asistan arkadaşlarıma, İbni Sina Hastanesi Tıbbi Onkoloji poliklinik hemşirelerine,

Beni yetiştiren, emeklerini hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, hep sevgi dolu olan annem Figen AKAY, babam Mesut AKAY'a,

Yoğun çalışmalarım sırasında sabır gösteren, desteğini esirmeyen ve her daim sevgisini içimde hissettiğim eşim İrfan HACAN'a ve canımdan çok sevdiğim oğlum Kerem HACAN'a,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ii
İÇİNDEKİLER iii
KISALTMALAR DİZİNİ v
TABLOLAR DİZİNİ vii
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
RESİMLER DİZİNİ ix
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. KOLOREKTAL KANSERLER 3
2.1.1. Epidemiyoloji ve İnsidans 3
2.1.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri 4
2.1.3.Kolorektal Kanserlerin Moleküler Patogenezi 7
2.1.3.1. Kromozomal İnstabilite(APC) Yolu 9
2.1.3.2. Mikrosatellit İnstabilite Yolu 9
2.1.3.3. CpG Adacık Metilatör Fenotip (CIMP) Yolu 10
2.1.4. Tümör Anjiyogenezi 10
2.1.5. Tümör İmmünolojisi 13
2.1.6. Tarama 17
2.1.7. Tanı 18
2.1.7.1. Semptom ve Klinik Bulgular 18
2.1.7.2. Laboratuar Bulguları 19
2.1.7.3. Görüntüleme Yöntemleri 20
2.1.8. Evreleme 21
2.1.8.1. TNM klinik evrelemesi 22
2.1.9. Patoloji 24
2.1.9.1. Greyd 26
2.1.10. Tedavi 27
2.1.10.1. Lokalize Kolorektal Kanserlerde Tedavi 27
2.1.10.1.1. Polip ve Evre I KRK'lerde Tedavi 27
2.1.10.1.2. Evre II ve Evre III KRK'lerde Tedavi 28
2.1.10.2. Evre IV (Metastatik) KRK'lerde Tedavi 31

2.1.10.2.1. Metastatik KRK'lerde Kemoterapi 31
2.1.10.2.2. Metastatik KRK'lerde Hedefe Yönelik Tedaviler 33
2.1.11. Prognoz 38
2.1.11.1. Patoloji ile İlgili Özellikler 38
2.1.11.2. Klinik ile İlişkili Özellikler 41
2.1.11.3. Moleküler Faktörler 41
3. MATERYAL ve METOD 43
3.1. Hastalar, tedavi protokolleri, hasta kan örneklerinin hazırlanması 43
3.2. Akım sitometrisi ile CD4, CD8 ve Treg hücre tayini 44
3.3. Hastaların klinik takibi ve sağkalım analizleri 44
3.4. İstatistiksel yöntemler 45
4. BULGULAR 46
4.1. Hastaların Klinikopatolojik Özellikleri 46
4.2. Tedavi Etkinliği 48
4.3. Progresyonsuz Sağkalım (PFS) ve Genel Sağkalımı (OS) Etkileyen Faktörler 49
4.4. Akım sitometrisinde lenfosit alt grupları ve T-reg düzeyleri analizleri 50
4.5. VEGF düzeylerine göre sağkalım analizleri 53
4.6. Bevacizumaba karşı antikor gelişimine göre sağkalım analizleri 55
5. TARTIŞMA 56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 60
ÖZET 62
SUMMARY 63
KAYNAKLAR 64

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD : Amerika Birleşik Devletleri
ACE : Angiotensin converting enzyme
ADCC : Antikor bağımlı hücresel sitotoksisite
AFAP : Attenue Familyal adenomatozis polipozis
APC : Adenomatozis polipozis coli
ASCO : American Society of Clinical Oncology
BT : Bilgisayarlı tomografi
CAPOX : Kapesitabin+oksaliplatin
CAPIRI : Kapesitabin+irinotekan
CDX2 : Kaudal tip homebox 2
CIMP : CpG adacık metilatör fenotip
CIN : Kromozamal instabilite
CK20 : Sitokeratin 20
DEA : Demir eksikliği anemisi
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
EGF : Epidermal büyüme faktörü
EGFR : Epidermal büyüme faktör reseptörü
ESMO : Europen Society for Medical Oncology
FAP : Familyal adenomatozis polipozis
FGF : Fibroblast büyüme faktörü
FGFR : Fibroblast büyüme faktör reseptörü
FLOX : Oksaliplatin+bolus 5-FU+ LV
FOLFIRI : 5-FU+LV+irinotekan
FOLFOX : Oksaliplatin+ LV+ kısa dönem 5-FU
G.A : Güven aralığı
H.R : Risk oranı
HIF : Hipoksi indüklenebilir faktör
HT : Hipertansiyon
IGF : İnsülin benzeri büyüme faktörü
KT : Kemoterapi

LV : Lökovorin

MAC : Membran atak kompleksi

MHC : Major histokompabilite kompleksi

MMR : Mismatch repair

MRG : Manyetik rezonanslı görüntüleme

MSI : Mikrosatellit instabilite

MSI-H : Yüksek derecede mikrosatellit instabilite

NCCN : National Comprehensive Cancer Network

NK : Doğal öldürücü

OS : Genel sağkalım

PDGF : Platelet kökenli büyüme faktörü

PDGFR : Platelet kökenli büyüme faktör reseptörü

PET : Pozitron emisyon tomografisi

PFS : Progresyonsuz sağkalım

PIGF : Plasental büyüme faktörü

RT : Radyoterapi

SMAD4 : Sma ve Mad ilişkili protein 4

SSP : Sesil serrated polip

TGF : Transforme edici büyüme faktörü

TNM : Tümör Nod Metastaz

XELOX : Kapesitabin+oksaliplatin

VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VEGFR : Vasküler endotelyal büyüme faktör reseptörü

5-FU : 5-Florourasil

5-FU/LV : 5-Florourasil+Lökovorin

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. KRK Anatomik evrelemesi 24
Tablo 2.2. DSÖ kolorektal kanser histolojik alt tipler 25
Tablo 2.3. KRK histolojik greyd kriterleri 27
Tablo 4.1.Hastaların klinik özellikleri 47
Tablo 4.2. Tedavi sonuçları 48
Tablo 4.3. Bevacizumab öncesi ve 2. Ay sonunda (4 doz bevacizumab sonrası) CD4, CD8 ve CD+CD25+FoxP3+ Treg hücrelerin oranları (medyan; dağılım) 51
Tablo 4.4. Tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 oranları ve Treg düzeylerine göre progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım sonuçları (Youden indeksine göre cut-off değerlerine göre) 52
Tablo 4.5. Hastaların VEGF düzeyleri (medyan, dağılım) 54
Tablo 4.6. VEGF düzeyleri ile sağkalım ilişkileri 54
Tablo 4.7. Anti-Bevacizumab antikor gelişimine göre sağ kalım sonuçları 55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Tüm hasta grubunda progresyonsuz sağkalım (PFS) eğrisi. 49
Şekil 4.2. Tüm hasta grubunda genel sağkalım (OS) eğrisi..... 50
Şekil 4.3. FoxP3 düzeylerine göre progresyonsuz sağkalım (PFS) eğrileri 53
Şekil 4.4. Hastaların serum VEGF medyan düzeyine göre progresyonsuz sağkalım (PFS) eğrileri..... 54

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Tümör anjiyogenezi 11

1. GİRİŞ

Kolorektal kanser (KRK) yaygın görülen ve ölümcül bir hastalıktır. KRK kadın ve erkekler arasında en sık rastlanan üçüncü kanserdir. KRK, erken evrede teşhis edilirse prognozu iyidir. KRK tanılı hastaların yaklaşık %80'i tanı anında rezektabl hastalığa sahiptir. Ancak küratif cerrahi geçiren hastaların %30-50'inde hastalık nüksü ve metastaz görülebilmektedir. Hastaların %20-25'i tanı anında metastatiktir. Rezaktabl olmayan metastatik KRK için standart tedavi, hedefe yönelik moleküler ajan ile veya olmaksızın kombinasyon kemoterapisidir.

Metastatik KRK'lerde tedavi yaklaşımı son 20 yılda önemli ölçüde gelişmiştir ve bu süre zarfında hastalık sağkalımında anlamlı uzama izlenmiştir. Özellikle epidermal büyüme faktörü reseptörü sinyalizasyonunu veya anjiyogenezi hedef alan yeni biyolojik tedavilerin ortaya çıkması sağkalım uzamasına katkı sağlamıştır (1).

Anjiyogenezi hedef alan tedaviler arasında en önemli ve yaygın kullanılan ilaç vasküler endotelyal büyüme faktörüne (VEGF) yönelik bir monoklonal antikor olan bevacizumabdır. Bevacizumabın VEGF'nin etkisini inhibe ederek var olan tümör vaskülaritesinin gerilemesine neden olduğu ve yeni kan damarı oluşumunu önlediği ve böylece tümör büyümesini inhibe ettiği düşünülmektedir. Hastaların bir kısmında hedefe yönelik tedaviler ile olumlu yanıt elde edilirken bir grup hastada tedaviye yanıt yoktur. Bevacizumab kolorektal kanserli hastaların tedavisinde etkili olmasına rağmen hastaların yaklaşık yarısında ise yanıt olmadığı gösterilmiştir. Bazı hastalarda ise bevacizumaba karşı kademeli olarak direnç geliştiği gözlenmiştir. Bevacizumab iyi tolere edilebilen bir ilaç olmasına karşın bazı hastalarda tanımlanmış yan etkiler ortaya çıkmıştır. Tromboz, kanama, hipertansiyon, gastrointestinal sistem perforasyonu, tromboemboli, inme yan etkilerinden bazılarıdır. Terapotik indeks bevacizumab alan hastalarda değişiklik gösterir. Özellikle bevasizumabın etkin olmadığı hastaların önceden belirlenerek bu hastaların toksisiteden korunması önemlidir. Ayrıca hastaların yaklaşık yarısında bevasizumabın etkili olmaması sağlık ekonomisi açısından da önemli

bir sorundur. Fakat günümüzde bevasizumabın etkili olabileceği hastaları seçmede kullanılabilecek bir biyomarker veya prametre bulunmamaktadır.

Çalışmamızda bevacizumaba karşı antikor gelişimi ile yanıtsızlık ve ilaç direnci ilişkisi irdelendi. Bevacizumaba karşı olaşan antikor varlığının sağkalım ile ilgisi araştırıldı. Bevacizumabın tümör dokusundaki anti-anjiyogenez etkinliği dışında immünolojik etkilerinin olduğu bilinmektedir. Son yıllarda ilaç nedeniyle oluşan immünolojik etkinin hastalığın prognozu ve tedavi yanıtı ile ilişkisi üzerine yapılan çok sayıda çalışma vardır. Bevacizumabın kanserdeki etkinliği sadece bilinen anti-anjiyogenetik özelliği ile değil aynı zamanda bağışıklık sistemi üzerindeki etkisi nedeniyle olduğu düşünülmektedir.

Metastatik KRK'li bevacizumab alan hastaların dahil edildiği bir çalışmada yardımcı T(CD4) ve sitotoksik T(CD8) lenfositlerin sayıca arttığı gösterilmiştir (2). Başka bir çalışmada ise kemoterapiye bevacizumab eklenmesi ile CD4+ T lenfosit/Treg hücre oranının anlamlı derecede arttığı ve Treg supresyon aktivitesini azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada Treg seviyesi azalan hasta grubunda sağkalımın arttığı saptanmıştır (3). Çalışmamızda tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 T lenfosit oranları ve Treg düzeylerinin sağkalıma etkisi değerlendirildi.

Uzmanlık tezi olarak seçilen bu çalışmada bevacizumab tedavisi alan ileri evre KRK hastalarında VEGF düzeyi ve anti-bevacizumab antikor ile sağkalım ilişkisi, ayrıca tedavi öncesi ve sonrası T hücre oran ve düzeyinin sağkalıma etkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KOLOREKTAL KANSERLER

2.1.1. Epidemiyoloji ve İnsidans

KRK kadın ve erkekler arasında en sık rastlanan üçüncü kanserdir. Dünyada 2015 yılında 1.65 milyon yeni tanı KRK saptanmış ve 835.000'i hastalık nedeniyle kaybedilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yılda yaklaşık 140.250 kolorektal kanser vakası teşhis edilmektedir. Bu vakaların 97.220'i kolon ve 43.030'u rektum kanseridir. ABD'de yıllık yaklaşık olarak 50.630 kişi KRK nedeniyle ölmekte ve bu tüm kanser ölümlerinin yaklaşık %8'ini oluşturmaktadır (4). KRK'ler ABD'de kadınlarda kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada, erkeklerde ise üçüncü sırada yerini almaktadır (5). Ülkemizde ise 2014 yılı Sağlık Bakanlığı verilerine göre kolorektal kanserler hem kadınlarda hem de erkeklerde üçüncü sırada yer almaktadır. KRK erkeklerde tüm kanserlerin %22,8'ini, kadınlarda ise %13,8'ini oluşturmaktadır (6).

1980 yılından itibaren ABD ve birçok batılı ülkede KRK mortalitesinde progresif bir azalma söz konusudur. Tarama programları ile kolon poliplerinin rezeke edilmesi ve KRK tanısının erken evrede konulmasının mortalitedeki azalma ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (7). KRK görülme oranlarındaki azalmanın aksine 50 yaş altı erkek ve kadınlarda KRK görülme sıklığı 1992 yılından itibaren 2012 yılına dek %2,1 oranında kademeli olarak artmıştır (8). Güncel veriler 50 yaş altında KRK tanısı konulan hastaların % 86'sının tanı anında semptomatik olduğunu saptamıştır. Ayrıca bu durumun ileri evre ve kötü gidiş ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (9). Günümüzde inflamatuar bağırsak hastalığı, abdominal radyasyon öyküsü, pozitif bir aile öyküsü veya predispozan kalıtsal bir sendrom olmadıkça tarama 50 yaşın altındaki bireyler için

önerilmemektedir. Bu durumun 50 yaş altı bireyler KRK tanı konulmasındaki gecikme ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

2.1.2. Etyoloji ve Risk Faktörleri

Yaş, sporodik KRK gelişiminde önemli bir risk faktörüdür. Kolorektal kanserler 40 yaş altında nadir olmakla beraber 40-50 yaş arasında risk artmaktadır ve her 10 yılda yaş ilişkili hastalık insidans oranları artmaktadır (10). ABD Surveillance, Epidemiology, and End Results Reporting (SEER) veritabanı ve diğer batı ülkelerinin kanser kayıtlarına göre, KRK insidansı 50 yaş altında artarken; 50 yaş üzerinde azalmaktadır (11). ABD'de 50 yaş altı erkek ve kadınlarda KRK inidansı 1992'den 2013 yılına kadar her yıl yüzde iki oranında artmıştır (12). 20 ile 39 yaş arasındaki genç bireylerde bile KRK sıklığının arttığı bildirilmektedir. Ancak 50 yaş altında görülme sıklığı artmasına rağmen mutlak insidans, 50 yaş üstünden daha düşüktür (13, 14). 50 yaş altı bireylerdeki KRK insidans artışı genellikle sol kolon ve rektal kanserlerden kaynaklanmaktadır (15).

Kolorektal kanserler mortalitesi yüksek bir kanserdir. Tarama sırasında premalign adenomlar çıkarılarak KRK önlenebilir. ABD'de genç erişkin dönem kanserlerinin %35'inin herediter KRK sendromları ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (16, 17). İlginç olarak düşük gelirli ülkelerde erken başlangıçlı KRK oranları batı ülkelerine kıyasla daha yüksek olarak bulunmuştur (18). ABD'de risk altındaki bireylerde yaşam boyu KRK insidansı yaklaşık %5'tir. KRK insidansı erkeklerde kadınlardan yaklaşık % 25 daha yüksektir (4). İnsidans, KRK gelişimine yatkınlık gösteren spesifik kalıtsal özelliklere sahip hastalarda daha yüksektir.

Son yıllarda sağ kolon ve proksimal kolon kanseri insidansında artış saptanmış olup en yüksek insidans artışı çekal lokalizasyondadır (19, 20). Özellikle kolon poliplerinin erken saptanması ve çıkarılması, kolorektal kanserlerin daha erken evrelerde saptanması, daha etkili primer ve adjuvan tedaviler mortalitenin azalmasına katkıda bulunmaktadır (21). Kolonoskopi sol taraflı kolorektal kanserleri saptamada sağ taraflı kanserlere göre

daha efektiftir. Bu farklılık kolonoskopi ile ilişkili nedenlere (tamamlanmamış kolonoskopi, anatomik değişiklikleri atlama) bağlı olabilmektedir, fakat sağ ve sol KRK biyolojisindeki farklılıklarla da ilişkilendirilmiştir. Örnek olarak BRAF V600E mutasyonu taşıyan mikrosatellit unstabil KRK hastalarında görülen adenomların endoskopik olarak gösterilmesi daha zordur.

Çevresel ve genetik faktörler KRK gelişme olasılığını arttırır. KRK vakaları çoğunlukla sporadiktir. KRK vakalarının yaklaşık %20'inde aile hikayesi bulunmaktadır. Bu nedenle KRK taraması yüksek riskli kalıtsal yatkınlığı olanlara önerilmektedir. Herediter KRK sendromları genellikle otozomal dominant şekilde kalıtılır ve kolon kanseri gelişimi açısından yüksek riske sahiptir. Familyal Adenomatöz Polipozis (FAP) ve Lynch sendromu (herediter non-polipozis kolorektal karsinom), herediter KRK sendromlarının en sık görülenleridir. Fakat tüm KRK vakalarının yaklaşık %5'ini oluşturmaktadır (22-24). FAP tanısı alanlarda yaşam boyu KRK riski %100'dür. Familyal Adenomatöz Polipozis (FAP); klasik FAP ve varyantlarından (Gardner Sendromu, Turcot Sendromu, attenue FAP) oluşmaktadır. Familyal Adenomatozis Polipozis 5q21-q22 kromozumunda bulunan APC supresör genin germline mutasyonu ile otozomal dominant olarak kalıtılır ve tüm KRK vakalarının %1'inden azını oluşturmaktadır (25). Her iki cinsiyette eşit sıklıkta görülmektedir. Attenue FAP (AFAP) vakalarında da APC geninde mutasyon vardır fakat APC mutasyon gen alanları farklıdır.

Klasik FAP hastalarında semptomlar yaklaşık 16 yaşında ortaya çıkarken; tedavi edilmemiş hastalarda 45 yaş civarında %90 oranında kolon kanseri görülmektedir. Klinik olarak kolorektal bölgede 100'den fazla polip vardır. FAP vakalarında kanser çoğunlukla sol kolona lokalizedir. Aynı zamanda duodenal kanser, hepatoblastom ve tiroid kanser riskinde de artış vardır. Attenue FAP ise daha ileri yaşta ortaya çıkan 10-100 arasında polip saptanan formudur. AFAP'ta adenomatöz polipler daha çok sağ kolonda lokalize olup sesil poliplerdir (26). FAP vakalarının %25'i de novo gelişmiş olup; aile hikayeleri yoktur.

Lynch Sendromu otozomal dominant bir sendromdur ve tüm kolonik adenokarsinomların yaklaşık %3'ünü oluşturmaktadır (27). KRK olgularının en sık

genetik geçişli nedenidir. Lynch sendromlu hastalarda en çok kolon ve endometriyum kanseri olmakla beraber birçok malignite riskinde artış vardır. Genetik olarak DNA mismatch repair (MMR) genlerinin (MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2) bir alelindeki germline mutasyonu veya EPCAM genindeki delesyon nedenli MSH2 ekspresyon kaybı sonucunda oluşur (28). MMR genlerinden birinin her iki alelinin inaktivasyonu ile gen inaktive olur. KRK'larda MMR geninin ikinci alleli somatik mutasyon veya promoter hipermetilasyon ile somatik olarak inaktive edilmektedir.

DNA hasarı sıklıkla mikrosatellitler olarak adlandırılan tekrarlayan nükleotid dizisi bölgelerinde meydana gelir. Tümör dokusunda MMR genindeki mutasyonlar nedeniyle mikrosatellit bölgeleri normal dokuya kıyasla genişlemiştir. Bu genetik değişiklik mikrosatellit instabilitesi (MSI) olarak adlandırılır. Lynch sendromu vakaları mikrosatellit instabilite(MSI) analizi veya MMR protein ekspresyonunun immünhistokimyasal incelenmesi ile tanı alabilir. MSI, Lynch sendromuna özgü değildir ve sporadik kolorektal kanserlerin yaklaşık %15'inde MSI vardır. Tümör dokusunda immünhistokimyasal yöntemler ile MLH1 proteini saptanamıyorsa BRAF gen mutasyonu bakılması önerilmektedir. BRAF gen mutasyonu saptanması germline yerine somatik mutasyon varlığını düşündürmektedir (29). Fakat mutasyon saptanmamış olması Lynch sendromunu dışlayamaz.

Ailesel kolorektal ve diğer kanser öyküsü hikayesi olanlarda (50 yaş altı, senkron veya metasenkron KRK olanlanlar) klinikopatolojik olarak Amsterdam kriterleri, Bethesda kılavuzuna göre Lynch sendromu araştırılmalıdır. Lynch sendromunda ekstrakolonik kanserler çok yaygındır. Özellikle ailesinde mutasyon saptanan kadınlarda %60'a varan oranlarda endometriyum kanseri gelişebilir. Lynch sendromunda over, mide, ince bağırsak, hepatobilier sistem, beyin, renal pelvis veya üreter kanseri gelişme riski de artmıştır (30). Aile öyküsü tanımlı genetik yatkınlık sendromları dışında da önemli bir risk faktörüdür. Birinci derece yakınında(ebeveyn, çocuk) KRK öyküsü olan bireylerde genel popülasyona göre risk iki katına çıkmıştır (31).

Kronik ülseratif kolit ile kolon kanseri arasında tanımlanmış bir ilişki vardır. Özellikle ülseratif kolitin süresi, kapsamı ve aktivitesi kolon kanseri riskinin belirleyicileridir. Pankolitli hastalarda genel popülasyona kıyasla KRK riski 5 ila 15 kat artarken, sol

kolonda sınırlı hastalıkta risk üç katına çıkmıştır (32). Kolon kanseri riskindeki artış, pankolitin tanısından yaklaşık 8 ila 10 yıl sonra, sol kolona sınırlı kolit tanısından 15 ila 20 yıl sonra başlar.

Çocukluk çağında malignite nedeniyle abdominal radyasyon alan bireylerde KRK başta olmak üzere gastrointestinal neoplazm riski önemli derecede artmıştır. Çocukluk çağı malignitesi nedeniyle 30 Gy ve üzeri abdominal radyasyon alanlara 35 yaşında veya radyasyondan 10 yıl sonra malignite taraması önerilir (33, 34). Prostat kanseri için radyoterapi alan hastalarda rektal kanser riskinin arttığı göterilmiştir. Risk artışı aile öyküsünde kolonik adenomu olanlarla benzerdir (35, 36).

2.1.3.Kolorektal Kanserlerin Moleküler Patogenezi

Kolorektal karsinogenezde genetik değişiklikler ile normal kolon epiteli invaziv kansere dönüşür. Genetik mutasyonlar kalıtsaldır veya kazanılmıştır. Fertilizasyon ve öncesinde gerçekleşen hehangi bir mutasyon ebeveynden yavruya geçer ve germ line mutasyon olarak adlandırılır. Bir doku veya organın büyüme ve gelişmesi sırasında bir hücrede kendiliğinden ortaya çıkan mutasyona ise somatik mutasyon denir (37). Germline mutasyonlar sık görülen herediter sendromların temelini oluştururken, sporadik kanserler çoklu somatik mutasyonların kademeli olarak birikmesi sonucu oluşmaktadır.

KRK vakaları çoğunlukla sporodik olarak ortaya çıkar ve sadece %5-10'u kanser ilişkili genlerdeki kalıtsal mutasyon kaynaklıdır. Sporadik kolorektal kanserler medyan yaşı 70-75 arasında olan hastalarda görülür ve hastaların yaklaşık %70'inde kanser distal kolondadır. Proksimal ve distal kolon arasında klinikopatolojik olarak çok sayıda farklılık vardır.

Tümörlerin klonal yapısı insan karsinogenezinin somatik mutasyon teorisinin kritik bir sonucudur. Bu modele göre tek bir mutasyona uğrayarak büyüme avantajı elde eden hücre çoğalma yeteneği kazanır. İlave klonal genişleme dalgaları ile daha fazla mutasyon, daha fazla hücresel düzensizlik ve nihayetinde istila ve metastaz kabiliyeti

elde etmektedir. Genetik olarak sporodik kolorektal kanserler tümör süpresör genler ve onkogenlerdeki değişiklikler sonucunda oluşur. APC mutasyonu adenom-karsinom yolu teorisinin başlangıcı kabul edilmektedir. Bunu Kirsten RAS (KRAS), Sma ve Mad ile ilişkili protein 4 (SMAD4) ve TP53 gibi genlerin çoklu mutasyonlarının birikimi takip etmektedir (37, 38).

Normal kolon epitelinde yenilenmeyi düzenleyen mekanizmalar bozulduğunda adenomatöz polipler oluşur. Kolorektal kanserlerin çoğununu adenomatöz poliplerin displastik hale gelmesiyle oluştuğu düşünülmektedir. Adenomların boyut olarak artması, displastik hale gelmesi ve nihayetinde invaziv potansiyele ulaşması ile KRK meydana gelir. 1990 yılında Fearon ve Vogelstein kolorektal kanserlerin moleküler temelini, her birikmiş genetik olayın kolonik epitel hücresine selektif büyüme avantajı sağlayan çok adımlı bir süreç olarak tanımlamıştır (37). Malign dönüşüm için germline veya somatik mutasyonlar gereklidir ve çoklu genetik mutasyonların birikmesi tümörün biyolojik davranışını belirlemektedir. Germline mutasyonları sık görülen kalıtsal sendromların (ailesel adenomatöz polipoz (FAP), Lynch sendromu) temelini oluştururken, sporadik kanserler çoklu somatik mutasyonların kademeli olarak birikmesinden kaynaklanır. Hem sporodik hem de kalıtsal KRK vakalarında APC genindeki mutasyon erken dönemde görülürken, p53 tümör baskılayıcı gen mutasyonları geç dönemde görülmektedir. İnsan tümörgenezinde nokta mutasyonlara ek olarak değiştirilmiş DNA metilasyonunu, gen yeniden düzenlenmesini, overekspresyonunu ve delesyonunu da rol oynamaktadır. APC'nin her iki allelinde mutasyon olması hücrede fonksiyonel APC protein yokluğuna yol açar ve bu da beta-cateninin anormal birikimi ile sonuçlanır. Beta-catenin anormal birikimi çok sayıda hücre büyüme faktörünü aktifleştirerek adenom oluşumuna neden olmaktadır (39, 40).

Günümüzde kolorektal kanserlerle ilişkili üç genetik yol tanımlanmıştır. Bunlar: Kromozomal instabilite (CIN) yolu, Mikrosatellit instabilite (MSI) yolu ve CpG adacık metilatör fenotip (CIMP) yolu olarak sınıflandırılır.

2.1.3.1. Kromozomal İnstabilite(APC) Yolu

Kromozomal instabilite yolu mutasyonların fonksiyon kazanması ile ilişkilidir. Tümörler kalıtsal (FAP'da olduğu gibi) veya sporodik nedenli olabilmektadir. Genomik instabilite kolorektal karsinogenezde temel bir süreçtir ve herediter nonpolipozis kolon kanseri / Lynch sendromu ve Mut YH-ilişkili polipoziste gösterilmiştir. DNA replikasyonu ve onarımında rol oynayan genlerde germ line mutasyonlar sonucunda oluşmaktadır (41). Kromozomal instabilite (CIN) gen delesyonları, duplikasyonları ve kromozomal yeniden düzenlemeleri içeren bir süreçtir. Kromozomal instabilite en sık rastlanan genomik instabilite tipidir ve KRK vakalarının %70-85'inde meydana gelir.

2.1.3.2. Mikrosatellit İnstabilite Yolu

Mikrosatellit instabilite (MSI) ise DNA MMR eksikliğinden kaynaklanır ve tek nükleotid tekrar sekanslarındaki mutasyonlarla karakterizedir. MSI sporodik kolorektal kanserlerde yaklaşık %15 oranında görülmektedir. DNA mismatch onarım(MMR) genleri DNA'daki spontan mutasyon nedeniyle oluşan uyumsuz baz çifti eşlemelerini belirler ve hatayı düzeltir. MSI yolu kalıtsal Lynch sendromu ile ilişkili olarak ortaya çıkan KRK vakalarını içermektedir. MMR genlerinden birinde (sıklıla MLH1 veya MSH2) oluşan germline mutasyonu sonucunda gen susturulur ve yetersiz DNA onarım kapasitesi nedeniyle genom boyunca DNA hataları birikir. Genom içinde yüzlerce kez tekrarlanan kısa nükleotid baz dizileri anormal şekilde birikmekte ve bunlar mikrosatellitler olarak adlandırılmaktadır. Tümörler yüksek düzey mikrosatellit instabilitesine (MSI-H) sahiptir. Sporadik kolorektal kanserlerin %15'inde yüksek seviyede MSI bulunmaktadır. MMR genlerinin germ line mutasyonu sonucu oluşan Lynch sendromunun aksine sporodik KRK vakalarında MMR gen promoter hipermetilasyon yoluyla gen susturulmaktadır (42, 43).

2.1.3.3. CpG Adacık Metilatör Fenotip (CIMP) Yolu

CpG adacık metilatör fenotip (CIMP) olarak adlandırılan üçüncü yol, CpG alanlarının metilasyonuyla karakterizedir (44). Yüksek sıklıkla CpG metilasyonuna sahip kolorektal kanserler CIMP+ tümörler olarak adlandırılır. CIMP pozitif tümörler BRAF mutasyonu, MLH1 gen mutasyonu ve KRAS mutasyonu ile ilişkilidir. CIMP negatif tümörler sıklıkla TP53 mutasyonu ile birliktelik göstermektedir (45). CpG adalarının hipermetilasyonu ile gen susturulması tümörlerde yaygın görülen bir olaydır. CpG adası metilatör fenotip (CIMP) yolu kolon kanseri gelişimindeki alternatif bir yoldur.
CpG adası metilasyon fenotipi (CIMP) 1, CIMP2 ve CIMP negatif olarak adlandırılan üç ayrı kolon kanseri grubu tanımlamıştır. Genetik olarak, bu üç grup çok farklı profillere karşılık gelir. CIMP1, MSI (%80) ve BRAF mutasyonları (%53) ve nadiren de KRAS ve p53 mutasyonları (sırasıyla % 16 ve %11) ile karakterizedir. CIMP2, KRAS mutasyonları (%92) ve nadir olarak MSI, BRAF veya p53 mutasyonları ile ilişkilidir. CIMP negatif vakalarda yüksek oranda p53 mutasyonu (% 71) ve daha düşük oranlarda MSI (% 12), KRAS ve BRAF mutasyonu ile ilişkilidir (45).

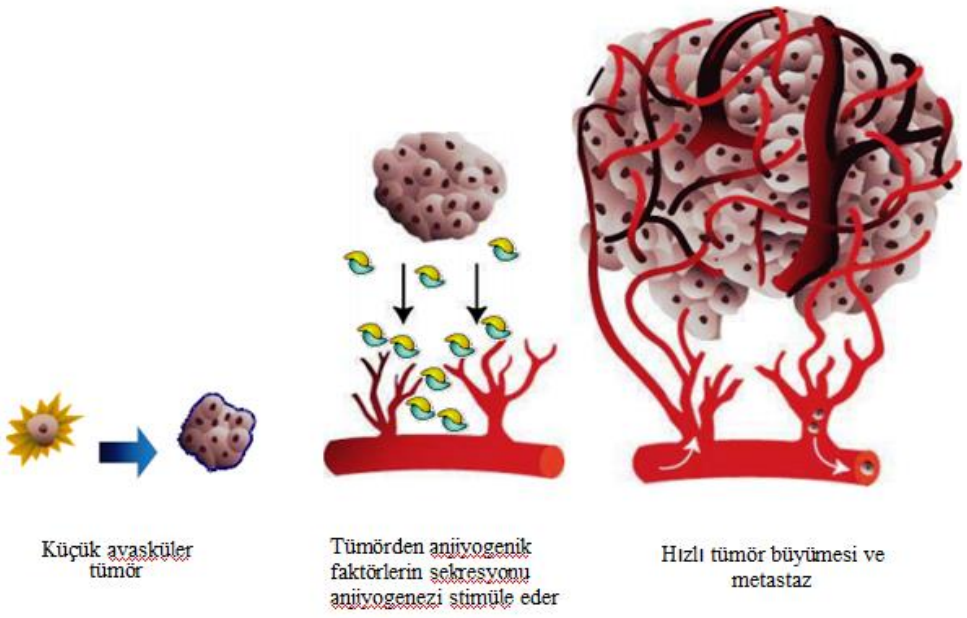
Sporodik proksimal KRK vakalarının yaklaşık %30-40'ında CIMP yolu tanımlanmıştır. CIMP yolu hem mikrosatellit instabil hemde mikrosatellit stabil KRK vakalarında BRAF mutasyonu ile ilişkilidir (46). Sigara içen sporodik KRK vakalarında BRAF V600E mutasyonları yaygındır (47). BRAF gen aktive mutasyonlar neredeyse sadece yüksek derece mikrosatellit instabilitede (MSI-H) meydana gelmektedir. MSI-H ve BRAF mutasyonu olan sporadik kolorektal kanserler serrated poliplerden geliştiği düşünülen klinik olarak farklı bir alt gruptur (48, 49).

2.1.4. Tümör Anjiyogenezi

Anjiyogenez indüksiyonu (neovaskülarizasyon) tümör büyümesi ve metastazı için önemli bir mekanizmadır. Tümör için gerekli olan besin maddelerinin ve oksijenin devamlılığını sağlar. Anjiyogenez kanser büyümesini de içeren birçok patolojik süreç için hız kısıtlayıcı bir basamaktır. Tümör büyüdükçe tümörün merkezindeki hücreler

hipoksik hale gelir ve tümör dokusu anjiyogenezi başlatır (Resim 1). Anjiyogenez, büyüme faktörlerinin negatif ve pozitif kontrolünde olan karmaşık bir süreçtir. Heparine bağlanan büyüme faktörlerinin çoğu anjiyogenezi uyarmaktadır. Hücre yüzeyinde ve ekstraselüler matrikste bulunan heparan sülfata büyüme faktörlerinin bağlanması ile bu faktörler stabilize olur reseptörlerine olan afiniteleri artar.

Anjiyogenezi kontrol eden ana büyüme faktörü, vasküler endotelyal büyüme faktörüdür (VEGF). VEGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) sistemi ve hipoksi indüklenebilir faktör (HIF) gibi büyüme faktörlerinin endotelyal hücre çoğalmasını arttırdığı birçok hayvan modelinde gösterilmiştir ve bu büyüme iskemik alan ile sınırlıdır (50-53).



Resim 1. Tümör anjiyogenezi

VEGF ailesi, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plasental büyüme faktöründen (PIGF) oluşmaktadır. VEGF'nin promoter bölgesindeki genetik değişkenlik, VEGF proteininin aktivite ve ekspresyonunu etkiler ve aynı zamanda VEGF inhibitörlerinin faydasını da etkileyebilir (54).

VEGF-A patolojik anjiyogenez için üzerinde en çok çalışılan ve farmakolojik olarak hedeflenmiş büyüme faktörüdür. VEGF-A epitelyal, endotelyal, inflamatuar ve hematopoietik hücrelerde üretilir, vasküler endotel hücrelerine selektif olarak bağlanır ve hem in vivo hem in vitro anjiyogenezi uyarabilir. Hem normal hem anormal anjiyogenez ile ilişkisi nedeniyle VEGF-A hem proanjiyogenik hem de antianjiyogenik tedavi için çekici bir hedef haline gelmiştir. Normal kapillerlere göre tümör dokusunda VEGF-A geçirgenliği daha fazladır ve tümör vaskülaritesinin düzensiz mimarisi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. VEGF-A mRNA ve proteini büyük ölçüde tümör dokusunda upregüle edilmektedir. Bazı tümörlerde VEGF-A'nın aşırı ekspresyonu, kötü prognoz ve sağkalımda azalma ile ilişkilidir (55). VEGF-A'nın yanı sıra VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve PIGF'lerin lemfanjiyogenez, matabolizma, kemik oluşumu, hematopoez ve patolojik anjiyogenez gibi süreçler üzerinde iyi bilinen etkileri vardır (56, 57).

VEGF anjiyogenik etkilerini yüksek afinite ile bağlandığı tirozin kinaz yapısındaki VEGFR (VEGF reseptörü) üzerinden gösterir. VEGFR; VEGFR-1 (Fltl), VEGFR-2 (Flk1 / KDR) ve VEGFR-3 (Flt4)3 olmak üzere üç tiptedir. Bu reseptörler İgG benzeri ekstraselüler bölgeye sahiptirler ve tirozin kinaz aktivitesi gösterirler.

VEGF-A ekspresyonu hipoksi durumunda artar. Azalan doku oksijenasyonuna uyum sağlamak amacıyla yeni kan damarı oluşumu sağlanır. Hipoksi nedenli VEGF-A ekspresyonunda hipoksi-indüklenebilir transkripsiyon faktörleri (HIF) aracılık eder. HIF'ler VEGF geninin transkripsiyonunu arttırır (58-60). Epidermal büyüme faktörü (EGF) ve transforme edici büyüme faktörü beta (TGF-beta) gibi sitokinler birtakım mekanizmalarla VEGF ekspresyonunu arttırırken, interferon alfa antianjiyogenik ve antitümör etki aracılığıyla VEGF gen inhibisyonuna aracılık eder (61). Bir hayvan modelinde VEGF reseptör inhibisyonunun tümör vaskülaritesinde %50-60 kayıba yol açtığı gösterilmiştir (62). Monoterapi olarak VEGF blokajı ile hem insan hem de hayvan tümör dokularında direkt ve hızlı antivasküler etki gösterilmiştir (63).

Tümörün büyümesi ve metastaz için anjiyogenez gerekli olduğundan tümör ilişkili anjiyogenezin kontrol edilmesi kanser progresyonunu önlemede umut verici olmuştur. Tümör mikroçevresi, anjiyogenik cevabı etkileyen çok sayıda sinyal molekülü ve yolu

içermektedir. Anjiyogenik uyaranların veya süpresörlerin işlevsel etkileşimlerini anlamak direnç mekanizmalarının nasıl ortaya çıktığını belirlemek için gereklidir. Sitotoksik kemoterapiye anjiyogenez inhibitörlerinin eklenmesi kanser hastalarında sağkalımı sadece birkaç ay uzatabilmektedir. Tümörlerin bu ajanlara karşı güçlü direnç ve adaptasyon sağladığı düşünülmektedir. Preklinik veriler anjiyogenez inhibitörlerinin tümör adaptasyonu, invazyonu ve metastatik davranışı indüklerken primer tümör büyümesini azaltabildiğini ortaya çıkarmıştır.

Rutin klinik kullanım için onaylanmış anjiyogenez veya antianjiyogenez biyobelirteçleri mevcut değildir. Böylece antianjiyogenik tedavilerin başarılı kullanımları için gerekli olan biyobelirteç arayışı klinik onkoloji ve kanser araştırmalarının zorluklarındandır (64). VEGF hedefli antianjiyogenik tedavide hastaların VEGF inhibitörlerinden bireysel yararlanma derecesi belirsizdir. Antianjiyogenik tedaviler toksik ve pahalı olması nedeniyle ilacın uygun ve etkin olduğu popülasyonu belirlemek önemlidir (65). Antianjiyogenez inhibisyonunda moleküler biyobelirteç araştırmaları aktif şekilde artmaktadır. Antianjiyogenik tedavilere dirençte tümör hücreleri ve stromal hücreler rol oynamaktadır. Bununla birlikte, bazı tümörler antianjiyojenik tedavilere (intrinsik direnç) yanıtsız olabilir veya tedavi sırasında direnç kazanabilirler (edinilmiş direnç). Preklinik ve klinik çalışmalar antianjiyogenik tedavilere karşı tümör direncini önlemeye veya geciktirmeye odaklanmıştır (66).

2.1.5. Tümör İmmünolojisi

Tümörler herhangi bir çekirdekli hücreden köken alabilir. Tüm çekirdekli hücreler de major histokompabilite kompleksi (MHC) sınıf I moleküllerini eksprese ederler. Tümör dokusunda MHC molekülleri ile tümör antijenleri sunulur. Ancak T hücresinde özgül yanıtın oluşabilmesi için mutlak ikinci bir sinyale yani ko-stimülasyona ihtiyaç vardır. Oysa tümör hücreleri yüzeylerinde ko-stimülatör molekülleri bulundurmazlar. Ayrıca, tümör hücreleri, T hücre aktivasyonunda aracılık edecek MHC sınıf II moleküllerini de yüzeylerinde bulundurmazlar. Tümör antijenleri konağın antijen sunan hücreleri (APC: Antign Presenting Cell) tarafından sunulur. APC, hücre üzerindeki tümör antijeninin

sitotoksik T lenfositler tarafından tanınır ve cevap oluşturulur. Ancak bu cevap genellikle zayıf ve yetersizdir. Çünkü tümör antijenleri zayıf immünojenik antijenlerdir. Konağın kendi antijenlerinden çok az farklılık gösterirler.

Bazı tümörler MHC genlerinde veya antijen sunumu ile ilişkili genlerde meydana gelen mutasyonlar sonucu MHC sınıf I moleküllerini eksprese etmeyi durdururlar. Bu durumda tümörler yüzeylerindeki tümör antijenlerini CD8+ T hücrelerine sunamaz hale gelirler. CD8+ T hücresinin sitotoksik aktivitesi sitokinler tarafından düzenlenen stimülatuar ve inhibitör reseptörlerin düzenlenmesi ile oluşur. T hücresi reseptörü (TCR) kompleksi iki ana transmembran bileşeninden oluşur: Birincisi MHC proteinine bağlanan CD4 veya CD8 reseptörleri, ikincisi ise tirozin bazlı aktivasyon komponenti ile transmemebran protein kompleksini kodlayan CD3 molekülüdür. TCR kompleksi MHC moleküllerinin spesifik kısa aminoasitlerine bağlanır. MHC sınıf 1 tüm çekirdekli hücreler tarafından eksprese edilir ve CD8+ T hücreler tarafından tanınırlar. MHC sınıf 2 molekülleri ise antijen sunan hücreler tarafından yapısal olarak eksprese edilir ve CD4+ T hücreler tarafından tanınırlar. CD8+ T hücrelerinin etkin aktivasyonu için TCR komleksinin ikinci bir kostimulatör sinyaller varlığında MHC tarafından sunulan bir peptide bağlanması gerekmektedir. Bu etkileşim ile CD3, hücre içi sinyaline yol açar, IL-12 ve IFN gama gibi pro-inflamatuar sitokinlerin salınmasına yol açar. Kostimülatör sinyaller olmazsa antijene karşı tolerans gelişir ve buna anerji denir. Naif T hücrelerindeki en önemli kostimülatör sinyal, APC üzerinde bulunan B7-1 ve B7-2 (CD80/86) reseptörünün T hücre yüzeyindeki CD28 ile bağlanması sonucu oluşur.

İmmünoloji ve onkoloji ilişkisi 19. yüzyılın sonlarında cerrah William Coley'in sarkom alanlarına ölü bakteri enjeksiyonu ile tümörün küçülebileceğini bildirdiği zaman anlaşılmıştır. Kanser immünoterapisinde amaç immün sisteme ait hücrelerin kanser hücrelerini hedef alarak yok etmelerini sağlamaktır. Ayrıca immünoterapi ile immün hücrelerin yeniden aktivasyonu ve tümör hücrelerini tanır hale gelmeleri amaçlanmaktadır. Bu konuda üç temel yaklaşım söz konusudur. Bunlardan ilki tümör ilişkili antijenlerin hedef alındığı monoklonal antikor aracılı hücre ölümü, ikincisi non-antijen spesifik immün sistem modülasyonu yapan check point inhibitörleri ve üçüncüsü tümör ilişkili antijenler aracılığıyla immün sistemin T helper, T sitotoksik hücrelerini uyarmayı ve uygun antikor oluşumunu hedefleyen terapötik kanser aşılarıdır.

Bir tümöre karşı etkili ve spesifik bir sitotoksik bağışıklık yanıtı için adaptif ve doğal bağışıklık sisteminde immün hücre tipleri arasında karmaşık, hızlı bir etkileşim gerektirir. Tümör immünitesinde T hücreleri en önemli rol oynar. T hücreleri tümör hücrelerini direkt olarak öldürürler veya tümör antijenlerini tanıyarak immün sistemi aktive ederler. CD8+ lenfositler sitotoksik T hücreleri olarak adlandırılırken, CD4+ T lenfositleri Th1/Th2 alt grupları yardımcı T hücreleri olarak adlandırılırlar. Antijen sunan hücre tarafından fagosite edilen tümör hücresinin antijeni MHC sınıf I molekülleri ile CD8+ T lenfositlere sunulur. Böylece tümör spesifik CD8+ T Sitotoksik T lenfositler (CTL) prolifere olur ve tümör hücrelerini direkt olarak apopitoz ve lizis yolu ile öldürürler. Tümör antijenlerinin MHC II molekülleri ile CD4+ T hepler (Th) hücrelerine sunulmasıyla Th hücreleri aktive olur. Aktive Th hücreler Th1 B lenfositlerini aktive eder. Buna çapraz sunum adı verilir. CD8 T hücreleri antijen sunucu hücrelerden (APC) aldığı raporlara göre MHC-1 reseptörlerini tarayarak tüm hücrelerdeki biyokimyasal durumu kontrol eder.

Geçmişte T hücre aracılı anti-tümör immünite çalışmaları daha çok CD8+ efektör T hücreleri ile ilişkilidir. CD8+ T hücreler aktive edildikten sonra hedef tümör hücrelerinin sitolitik ölümüne neden olabilir. Ayrıca IFN-γ veya TNF gibi efektör sitokinlerin sekresyonu ile tümör yıkımına yol açar. T hücre nedenli kanser immünoterapisinin primer hedefi CD8 + efektör T hücrelerinin tümör tarafından eksprese edilen antijenlere karşı sensitivite ve spesivitesini arttırmaktır (67).

Antikor bağımlı tümör lizisinde iki mekanizma görev yapar: 1) Komplemana Bağımlı Sitotoksisite (CDC) ve 2) Antikora Bağımlı Hücresel Sitotoksisite (ADCC). Komplemana bağımlı sitotoksisitede tümör hücre yüzeyindeki Fc reseptörlerine komplemanı fikse eden antikorlar bağlanır. Kompleman aktivasyonuyla tümör hücre membranında membran atak kompleksi (MAC) oluşur. Tümör hücresinin membranında delikler açılır ve lizis gerçekleşir. ADCC yolunda doğal öldürücü (NK) hücreler, makrofajlar, granülositler gibi fagositer hücreler hücre lizisine aracılık ederler. ADCC mekanizması kompleman bağımlı sitotoksisiteye kıyasla tümör eliminasyonunda daha etkili bir mekanizmadır (68).

NK hücrelerde sitotoksik etki için major histokomplabilite kompleksi (MHC) yolu ile antijen sunumuna gerek yoktur. NK hücreleri MHC sınıf I reseptörleri ile değil tümör hücrelerinin yüzeyindeki NK reseptörlerine bağlanarak aktive olurlar. Tümör hücre yüzeyindeki Fas reseptörü ile NK hücresinin yüzeyindeki Fas L ligantının birleşmesiyle NK hücreleri aktive olur ve granül ekzositozu gerçekleşir. Perforinler ve granzimler gibi sitotoksik faktörler tümör hücrelerinin membranında delikler ve hasarlara yol açar. NK hücreler efektif kanser immünoterapisinde aktif bir potansiyle sahip doğal lenfoid hücrelerdir. NK hücreler sağlıklı hücrelere toleransı sağlarken, antikor kaplı hücreleri, kanser kök hücreleri ve gen değişimine uğramış hücreleri öldürür. NK hücreleri antikorlarla çevrili tümör hücrelerini Fc reseptörleri ile tanıyarak ADCC yolu ile yok ederler. NK hücreler pro-inflamatuar sitokinler aracılığıyla anti-inflamatuar tümör mikroçevresini bozar. Böylece malignite bölgelerinde aksesuar immün hücrelerinin farklılaşmasını, aktivasyonunu ve toplanmasını sağlar (69).

Yardımcı T 17 (Th17) tümör immünitesinde karmaşık ve tartışmalı bir rol oynamaktadır. Maligniteye bağlı olarak tümör büyümesini hem arttırabilir hem de süprese edebilmektedir. Tümör ortamında indüklenen inflamatuar sinyallerin Th17 hücrelerinin antitümör aktivitesini regüle ettiği düşünülmektedir. Tümör dokusundaki regülatuar T lenfositler ve sitotoksik CD8 (+) T hücreleri arasındaki etkileşimlerin Th17 hücrelerinde değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (70).

Normal dokuların otoimmün cevabı engellenince anti-tümör immün yanıt oluşamaz. Özellikle immünsuppresif regülatuar T hücreler (Tregs) aracılığı ile otoreaktif T hücrelerin temizlenmesinin anti-tümör immün cevabı engelleyen ana neden olduğu düşünülmektedir. Treg hücreler anti-tümör immünitenin süpresyonu ve tümör destekleyici inflamasyonun regülasyonuyoluyla tümör gelişimini sağladığı düşünülmektedir. Güçlü immunsüpresif etkileri nedeniyle kanser immünoterapisinde tümör ilişkili Treg hücrelerin blokajı amaçlanır (67).

2.1.6. Tarama

Kolorektal kanserler sık görülen ve mortal kanserlerdir. Çoğu KRK adenomlardan gelişir. Kazanılmış ve herediter genetik defektler polipteki neoplastik değişimin sorumlusudur. Adenomdan karsinoma progresyon ortalama 10 yıldır. Tarama ile premalign adenomların çıkarılması ile KRK önlenebilir. KRK vakaları 40 yaş öncesinde nadirdir. İnsidans yaşla beraber yılda 3.7/1000 oranında artmaktadır. KRK gelişen her üç kişiden biri hastalık nedeniyle ölmektedir.ABD verilerine göre KRK insidans ve mortalite oranları azalmaktadır. KRK nedenli ölüm oranlarının 2004 ve 2013 yılları arasında ortalama %2,7 azaldığı gösterilmiştir (12).

Yaş ve aile öyküsü kolorektal kanserler için en önemli risk faktörleridir. Aile öyküsünün KRK riski üzerindeki etkisi 70 yaşından sonra görülmemektedir. Tüm kolorektal kanserler patolojik inceleme sırasında Lynch sendromu açısından immünhistokimyasal incelenmelidir (71,72). Ailesinde 60 yaşından önce adenomatöz polip hikayesi olanlarda risk artmıştır.

Polip veya kanserlerin kolon ve rektum boyunca dağılımları eşittir, ancak kadınlarda artan yaş ile proksimali tutma eğilimi artar. Bazı kolon kanserleri polipoid olmayan adenomlardan kaynklanmaktadır. 8 milimetredem (mm) büyük düz adenomlarda displastikdeğişiklikler veya kanser olasığı artmıştır. Kolorektal poliplerin çoğu adenomatöz veya hiperplastiktir. Poliplerin üçte ikisi adenomlardır. Adenomlar erkeklerin %30 ve kadınların %20'sinde bulunur ve prevelans yaşla birlikte artar. Hiperplastik polipler genellikle 1 santimetrenin(cm) altındadır ve distale yerleşme eğilimindedir. Genel olarak hiperplastik premalign olmadığı düşünülse de izole hiperplastik poliplerden kaynaklı kanserler raporlanmıştır. KRK riski adenom büyüklüğü ve sayısı ile artar. Histoloji incelendiğinde villöz adenomlar tubüler adenomlardan daha fazla KRK riski taşır. Hamartomatoz polipler ise genellikle daha az malignite potansiyeline sahiptir, ancak Juvenil Polipozis Sendromu ve Peutz-Jeghers Sendromu gibi hamartamatöz polipli hastalarda KRK riski artmıştır. KRK kanser öyküsü olanlarda başka primer(metakron) kanser riski de artar. KRK öyküsü olan hastalarda ikinci primer KRK insidansı genel popülasyona göre 1,4 kat artmıştır (73).

Kolonda uzun süreli ve yaygın inflamtuar bağırsak hastalığı (ülseratif kolit veya Crohn hastalığı) olanlarda KRK riski artmıştır. Kanserler, poliplerden ziyade displazi bölgelerinde gelişir.

National Comprehensive Canser Network(NCCN) kılavuzuna göre:
KRK tarama planı için öncelikle hastanın risk durumu belirlenmelidir. Ortalama risk grubundaki hastalar: 50 yaş üstü, aile öyküsü, adenomatöz polip veya sesil serrated polip (SSP) öyküsü, KRK öyküsü, inflamatuar bağırsak hastalığı olmayan hastalardır. KRK taraması 50 ile 75 arası bireylere önerilmektedir. 76 ve 85 yaş arasındaki bireylerde risk ve yararların değerlendirildiği, komorbidite durumları ve yaşam beklentisi göz önünde bulundurulmalıdır. Tarama amacıyla kolonoskopi, gaytada gizli kan incelemesi, fekal DNA-fekal immünokimyasal test, fleksibl rektosigmoidoskopi veya BT kolonografi yapılabilir. Hastalar farklı tarama seçeneklerinin riskleri ve yararları konusunda bilgilendirilmelidir. Hangi tarama testinin seçilmesi gerektiği güvenlik, maliyet, hasta tercihi ve tarama testlerine ulaşılabilirlik göz önüne alınarak değerlendirilmelidir. Kolonoskopide polip saptanmayan olgularda 10 yıl sonra taramanın tekrarlanması önerilmektedir. Yüksek risk grubundaki hastalar: Aile öyküsü, adenom öyküsü, KRK öyküsü, inflamtuar bağırsak hastalığı, ailesinde Lynch sendromu ve kendisinde veya ailesinde FAP öyküsü olan kişilerdir. Diyabet veya BRCA pozitif meme kanseri olup obez olan kişilerde de KRK riski artmıştır.

2.1.7. Tanı

2.1.7.1. Semptom ve Klinik Bulgular

KRK tanısı hikaye, fizik muayene ve tanısal testler ile konulur. Özellikle aile hikayesi, rektal kanama, dışkılama alışkanlığındaki değişiklikler ve kilo kaybı sorgulanmalıdır. KRK hastaları asemptomatik olabileceği gibi intestinal obstrüksiyon, peritonit ve nadir olarak da akut gastrointestinal kanama ile başvurabilir (74). Erken evre kolon kanserli hastaların çoğunda semptom görülmez ve bu hastalar tarama ile saptanır. KRK ilişkili

tipik semptom ve bulgular: melena veya hematokezya, karın ağrısı, nedeni bilinmeyen demir eksikliği anemisi ve bağırsak alışkanlığında değişikler olarak tanımlanmıştır. Abdominal distansiyon ve bulantı-kusma daha az görülen başvuru semptomlarıdır.

Kolorektal kanserlerde semptom ve bulgular tümörün yerleşimine ve evresine göre değişmektedir (75, 76). Sağ kolon çapının geniş, bu alandaki dışkının daha sıvı ve sağ kolon tümörlerinin daha çok ülsere-vejetan tipte olması nedeniyle sağ kolon tümörlerinde obstrüksiyon nadir görülür. Sağ kolon tümörlülerde daha çok kronik kan kaybına sekonder olarak gelişen anemi semptomları bulunmaktadır. Konstipasyon, tenezm, dışkı kalibrasyonunda azalma, diyare ve kabızlık atakları, rektal kanama sol kolon yerleşimli KRK vakalarında daha sık görülmektedir. Rektum kanserlerinde ana semptom rektal kanamadır, ayrıca kabızlık ve karın ağrısı da sık görülür. Tanı anında semptomatik olan hastalar tipik olarak ileri evre hastalığa sahiptir ve daha kötü prognoza sahiptir. Obstrüksiyon ve perforasyon nadir görülmekle birlikte evreden bağımsız olarak kötü prognoz ile ilişkilidir (77, 78).

2.1.7.2. Laboratuar Bulguları

Kolorektal kanserler sıklıkla demir eksikliği anemisi (DEA) ile ilişkili olmasına rağmen DEA yokluğu hastalığı dışlayamaz. Rutinde kullanılan tanısal bir laboratuar tetkiki yoktur. KRK vakalarında karaciğer metastazlarının saptanmasında karaciğer fonksiyon testlerini içeren rutin laboratuar testlerinin tanısal değeri yoktur. KRK ile birçok serum belirteci ilişkilendirilmiştir. Bu belirteçlerin başında karsinoembriyojenik antijen (CEA) gelmektedir. CEA dahil tüm belirteçlerin erken evre KRK teşhisinde sensitivitesi düşüktür. Yapılan bir meta-analizde CEA'nin KRK kanser tanısında sensitivitesi sadece %48 olduğu sonucuna varılmıştır (79). Kanser dışı durumlarda da CEA yüksekliği saptanabilir. Gastrit, peptik ülser hastalığı, divertikülit, karaciğer hastalıkları, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, diyabet, akut veya kronik inflamatuar süreçler ve sigara kullanımı CEA yüksekliği yapan benign durumlara örnek gösterilebilir (80).

Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (ASCO) tarafından yürütülen kolorektal kanserdeki tümör belirteçleri ile ilgili bir panelde, CEA'nin kolorektal kanserler için tarama veya tanı testi olarak kullanılması önerilmez. Fakat ASCO kılavuzunda, cerrahi planı olan hastalarda preoperatif dönemde, postopertaif takipte ve prognoz değerlendirilmesinda CEA seviyesine bakılması önerilmektedir (81).

Yeni tanı konulan KRK hastalarında CEA düzeyinin prognostik değeri vardır. Preoperatif dönemde serum CEA seviyesi 5 ng/ml'den fazla olan hastalarda prognoz daha kötüdür (82). Cerrahi rezeksiyon sonrası normal düzeye gerilemeyen yüksek preoperatif CEA düzeyleri persistan hastalık varlığına işaret eder. Ayrıca cerrahi veya kemoterapi için potansiyel bir aday olabilecekse, evre II ve III hastaları için beş yıl süreyle postoperatif CEA düzeylerinin seri tahlili yapılmalıdır. KT veya cerrahi adayı olan evre II ve III KRK hastalarında postoperatif CEA düzeyleri beş yıl boyunca takip edilmelidir. Cerrahi rezeksiyon sonrası artan CEA düzeyi rekürren hastalığa işaret eder ve radyolojik görüntüleme planı yapmalıdır. KRK dışı vakalarda da CEA yükselebildiği gibi ileri evre olmasına rağmen CEA seviyesi düşük saptanan KRK olguları da mevcuttur. Mevcut veriler KRK'de diferansiyasyon yokluğunun veya az olmasının düşük CEA düzeyi ile ilişkilendirilebileceğini belirtmektedir (83).

KRK'in erken tespitinde veya postoperatif nüksün saptanmasında Sept9 testi, Geminin testi ve kanda mikroRNA gibi test çalışmaları bulunmaktadır. Sept9 testi erken evre KRK tanısında etkilidir (84). Geminin testinde ise KRK'lerde geminin-pozitif hücrelerin oranı artmış olarak saptanmıştır (85).

2.1.7.3. Görüntüleme Yöntemleri

Semptom ve bulgular ile KRK şüphesi varsa bir sonraki basamak kolonoskopi, baryumlu enema, bilgisayarlı tomografi (BT) olmalıdır. Hastalara tanının kesinleştirilmesi amacıyla mutlaka kolonoskopik değerlendirme yapılmalıdır. Hastalığın kesin tanısı histopatolojik inceleme ile konulur. Görüntüleme yöntemleri hastalığın yayılımını belirleyerek tedavi planında yardımcı olmaktadır.

Yeni tanı invazif kolorektal kanserli hastalara cerrahi öncesinde toraks, abdomen ve pelvis BT görüntülemesi yapılmalıdır. Böylece tümör yayılımı, bölgesel lenf nodu yayılımı, uzak organ metastazı ve tümör ilişkili komplikasyonlar (obstrüksiyon, perforasyon, fistül oluşumu) değerlendirilebilir. Preoperatif hastalarda özellikle kanama veya obstrüksiyon nedeniyle semptomatik olan hastalarda izole karaciğer veya akciğer metastazlarının olması primer tümöre cerrahi yaklaşımı değiştirmeyebilir. Rezeksiyona uygun invaziv kolon kanseri ile başvuran hastalara patolojik doku örneklemesi, total kolonoskopi, tam kan tetkiki, CEA düzeyi ve bazal toraks, abdomen ve pelvis BT'i içeren tam bir evreleme yapmak gerekmektedir. BT oral veya intravenöz (İV) kontrastlı çekilmelidir. Eğer kontrast kullanımı kontraendike ise hastalar kontrastsız toraks BT veya abdominopelvik manjetik rezonanslı görüntüleme (MRG) ile değerlendirilmelidir.
BT'de karaciğerde metastaz şüphesi olan hastalarda karaciğerin kontrastlı MR görüntülemesi hepatik lezyonları görüntülemede BT'e kıyasla daha belirleyicidir. Yeni tanı KRK vakalarında evreleme için preoperatif dönemde toraks BT'de hastaların %9'unda belirsiz pulmoner nodül saptanmış ve nodül saptanan hastaların %11'inin takibinde KRK metastaz olduğu görülmüştür. Belirsiz pulmoner nodüldeki düşük metastaz riski nedeniyle preoperatif tanıda veya takipte rutin önerilmez.

Pozitron emisyon tomografisi (PET) preoperatif dönemde bazal değerlendirmede endike değildir. Eğer BT veya MR ile görüntülemede şüpheli ve metastaz için belirsiz bir anomali varsa, tanımlama ile yaklaşımı değiştirecekse, daha ayrıntılı değerlendirme için PET yapılması düşünülmelidir. PET'in görüntüleme yöntemi olarak seçilmesi gereken durumlar; takipte CEA düzeyinin arttığı ve diğer görüntüleme yöntemleri ile hastalığın lokalize edilemediği vakalar veya görüntülemede karaciğer metastazı ile uyumlu bulgusu olup metastazektomi planlanan hastalardır.

2.1.8. Evreleme

KRK tanısı konulduğunda tedavi ve prognozun belirlenmesi amcıyla lokal hastalık ve metastatik hastalık dereceleri tanımlanır. Biyopsi örneğinin incelenmesi klinik evreleme

ve cerrahi rezeksiyon gereksinimi hakkında karar vermede önemlidir. Cerrahi sınır pozitifliği, kötü diferasiyasyon, lenfovasküler invazyon gibi kötü histolojik özelliklerle ilişkisi olmayan invaziv malign poliplerde lenfatif ve uzak metastaz riski düşüktür.

2.1.8.1. TNM klinik evrelemesi

American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control (AJCC-UICC) tarafından tümör-nod-metastaz (TNM) baz alınarak yapılan evreleme sistemidir. T, tümörün invazyon derecesine; N, lenf nodu tutulumuna (Lenf nodu sayısının prognostik önemi nedeniyle en az 10-14 lenf nodunundeğerlendirilmiş olması gerekmektedir); M, metastaz varlığı/ yokluğuna göre değerlendirilir. TNM evrelemesinin 2017 yılında yeniden revize edilmesi ile M1c evresi peritoneal karsinomatozu kötü prognostik faktör olarak tanımlamıştır. Ayrıca nodal mikrometastazların (tümör küme çapının >0,2mm olması) kötü prognoz göstergesi olduğu kabul edilmiştir.

T- Primer tümör
Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor
T0: Primer tümör yok
Tis: Karsinoma in situ, intramukozal karsinom (muskularis mukoza uzanımı olmadan lamina propria tutulumu var)
T1: Tümör submukozaya yayılmış.
T2: Tümör muskularis propriaya yayılmış.
T3: Tümör subserozaya veya peritonla kaplı olmayan perikolik veya perirektal dokulara yayılmış.
T4a: Tümör perforasyon ile visseral peritonu (seroza) geçmiş (bağırsağın tümör yoluyla gros perforasyonu ve tümörün inflamasyon alanları boyunca visseral peritonun devam eden invazyonu).
T4b: Tümör doğrudan invazyon yoluyla komşu organlara yayılmış.

N- Rejyonel lenf nodları

Nx: Rejyonel lenfnodları değerlendirilemiyor.

N0: Rejyonel lenf nodlarına yayılım yok.

N1: 1-3 perirektal veya perikolik lenf nodunda metastaz var.

N1a: 1 rejyonel lenf nodunda

N1b: 2-3 rejyonel lenf nodunda

N1c: rejyonel lenf nodunda tutulum yok, ancak tümör subseroza, mezenter veya peritonsuz perikolik veya perirektal tutulum var

N2: 4 veya daha fazla lenf nodunda metastaz var.

N2a: 4-6 lenf nodunda

N2b: 7 veya daha fazla lenf nodunda

M- Uzak metastaz

M0: Görüntüleme ile uzak bölge veya organlarda metastaz varlığı yok

M1: Bir veya daha fazla uzak organa veya peritona metaztaz varlığı tanımlanmış.

M1a: Peritoneal metastaz olmadan bir bölge veya organa metastaz var

M1b: Peritoneal metastaz olmaksızın iki veya daha fazla bölge veya organda metastaz var.

M1c: Tek başına veya diğer organ metastazları ile birlikte peritonal yüzeye metastaz varlığının bulunması

TNM'ye göre anatomik evre Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. KRK Anatomik evrelemesi

Evre	Evre grupları
Evre 0	Tis, N0, M0
Evre I	T1 veya T2, N0, M0
Evre IIA	T3, N0, M0
Evre IIB	T4a, N0, M0
Evre IIC	T4b, N0, M0
Evre IIIA	T1 veya T2, N1 veya N1c, M0 T1, N2a, M0
Evre IIIB	T3 veya T4a, N1 veya N1c, M0 T2 veya T3, N2a, M0 T1 veya T2, N2b, M0
Evre IIIC	T4a, N2a, M0 T3 veya T4a, N2b, M0 T4b, N1 veya N2, M0
Evre IVA	Herhangi bir T, Herhangi bir N, M1a
Evre IVB	Herhangi bir T, Herhangi bir N, M1b
Evre IVC	Herhangi bir T, Herhangi bir N, M1c

2.1.9. Patoloji

Tüm kolorektal kanserler adenom veya yassı displazi kaynaklı olmasına rağmen invazyon ve genişleme ile farklı morfolojik yapılara dönüşmektedir. Gross görünümdeki farklılıklara rağmen sağ ve sol taraflı kolon kanserleri mikroskobik olarak benzerdir rejyonel hastalık durumunda benzer prognoza sahiptirler (86). Bununla birlikte metastatik hastalık durumunda, bazı veriler sağ taraflı KRK hastalarının daha kötü bir prognoz sahip olduğunu göstermiştir (87, 88).

Kolorektal kanserlerde evreleme cerrahi sonrası numunenin patolojik evrelendirilmesi ile yapılmaktadır. Patolojik olarak öncelikle kanserin greydi, tümörün derinliği, lenf nodu tutulumu, metastaz varlığı, proksimal-distal ve radyal sınırların cerrahi pozitif veya negatif olması, perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon, ekstrapiramidal tümör varlığı değerlendirilmelidir. Kolon ve rektum tümörlerinin çoğunluğunu karsinomlar oluşturur. Diğer histolojik tipler: nöroendokrin neoplazmlar, hamartomlar, mezenşimal tümörler, lenfomalardır. Karsinomların %90'dan fazlasını adenokarsinomlar oluşturur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) KRK sınıflandırılması Tablo 2.2'te gösterilmiştir.

Tablo 2.2. DSÖ kolorektal kanser histolojik alt tipler

Adenokarsinom
Kribriform komedo tip adenokarsinom
Medüller karsinom
Mikropapiller karsinom
Müsinöz (kolloid) adenokarsinom (>%50 müsinöz)
Serrated adenokarsinom
Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom (>%50 taşlı yüzük hücre)
Adenoskuamöz karsinom
İğsi hücreli karsinom
Skuamöz hücreli (epidermoid) karsinom
İndiferansiye karsinom

Bu morfolojik varyantların bazıları prognostik önem taşır. taşlı yüzük hücreli kanserler genellikle kötü prognozlu agresif bir adenokarsinoma alt tipidir ve sıklıkla yetersiz mismatch repair (MMR) proteinleri ile ilişkilidir (89). Gland oluşumu iyi diferansiye tümörlerde daha büyük derecelerde bulunur. Kötü diferansiye veya indiferansiye adenokarsinomlar (yüksek greyd tümörler) glandüler yapılar oluşturmazlar. Birçok hücre salgılanabilen müsin üretir. Ekstraselüler müsin, tümör duvarından geçer ve lokal yayılıma yardımcı olur. Bol miktarda ekstraselüler müsin üreten tümörler (tümör kitlesinin% 50'den fazlasını müsin oluşturan) müsinöz karsinomlar olarak adlandırılır

(90). Müsinöz karsinomlar daha çok sağ kolon tümörlerinde görülür ve neoadjuvan ve adjuvan kemoterapiye daha düşük yanıt verirler (91-94). Taşlı yüzük hücreli karsinomlarda hücre içi artan müsin, tümör hücresinin çekirdeğini yer değiştirir. Taşlı yüzük hücreli karsinomlar geniş ölçüde intramural yayılım ve peritoneal karsinomatöz eğilimi olan agresif varyantlardır (95, 96). Bazı kanserler, özellikle distal kolonda ortaya çıkar, skuamöz diferansiasyon alanları içerir ve adenoskuamöz karsinom olarak adlandırılırlar (97).

KRK'lerin özellikle de kötü diferansiye tümörlerin yaklaşık %10'unda nöroendokrin diferansiasyon bulunur. Medüller karsinom küçük lenfositler tarafından yoğun şekilde infiltre edilen büyük eozinofilik, poligonal hücrelerden oluşan ve gland oluşturmayan bir subtiptir. İmmünhistokimyasal değerlendirmede sitokeratin 20 (CK20) ve kaudal tip homebox 2 (CDX2), kolorektal orjinli kanserlerin doğru tanımlanmasında en duyarlı ve spesifik belirteçlerdir (98-100).

2.1.9.1. Greyd

Greyd: Tümör hücrelerindeki anaplazinin derecesine, diferansiasyonuna göre puanlama 0-4 arasında değişen derecelendirmeye denir. Evre ve greyd arttıkça prognoz kötüleşir. G1'de kanser hücresi normal kolorektal dokuya benzer. G4'de kanser hücresi normal doku morfolojisinden uzak, anormal görünümdedir. G2 ve G3 ise G1 ve G4 arasında morfolojikgörünüm olarak değerlendirilir. Kolorektal kanserlerde histolojik greyd kriterleri Tablo 2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 2.3. KRK histolojik greyd kriterleri

Rakamsal Greyd	Tanımlayıcı Greyd	Farklılaşma Kategorisi	Kriter
Greyd 1	Düşük greyd	İyi diferansiye	>%95 gland oluşumu olan
Greyd 2	Düşük greyd	Orta diferansiye	%50-90 gland oluşumu olan
Greyd 3	Yüksek greyd	Kötü diferansiye	%0-49 gland oluşumu olan
Greyd 4	Yüksek greyd	İndiferansiye	Gland oluşumu, müsin üretimi veya nöroendokrin, skuamöz, sarkomatoid farklılaşması olmayan
Değişken greyd	Düşük greyd	Değişken	Artmış düzeyde mikrosatellit instabilitesi olan

2.1.10. Tedavi

2.1.10.1. Lokalize Kolorektal Kanserlerde Tedavi

Kolorektal kanserlerin yaklaşık %80'i kolon duvarına ve/veya bölgesel lenf nodlarına lokalizedir. Lokalize KRK'lerde cerrahi küratif yaklaşımı amaçlamaktadır. İnvazif kanserlerde cerrahi amaç, tümörü, major vasküler pedikülü ve etkilenen kolon segmentintinin lenfatif drenaj havzasını tamamen çıkarmaktır.

2.1.10.1.1. Polip ve Evre I KRK'lerde Tedavi

Polipte tümör hücreleri submukozaya ulaşmış (pT1) ise malign polip olarak adlandırılır. Benign adenomlar cerrahi sınırı kanser içermediği sürece endoskopik polipektomi ile

etkin şekilde tedavi edilirler. Polip endoskopik olarak tamamen çıkarıldıysa ve iyi histolojik özelliklere (greyd 1-2, lenfovasküler invazyon, negatif cerrahi sınır) sahipse cerrahi rezeksiyon gerekmeyebilir. Kötü diferansiye histoloji, lenfovasküler ivazyon, rezeksiyon veya sap sınırında kanser, bağırsak duvarında muskülaris propriya invazyonu (T2 lezyon), sesil polipten oluşmuş invazif karsinom varlığı gibi faktörlerden herhangi birinin varlığı radikal cerrahi gereksinimi oluşturabilir. Evre I KRK'de cerrahi tek küratif tedavi seçeneğidir. Bağırsak devamlılığı açısından komplikasyonsuz cerrahilerde Primer anastamoz yapılır; ancak peritonit, perforasyon varsa veya sol lon obstrüksiyonu varsa kolostomi veya ileostomi açılmalıdır.

2.1.10.1.2. Evre II ve Evre III KRK'lerde Tedavi

Metastatik olmayan KRK'lerde (evre II ve evre III) öncelikle kolektomi ve lenf nodu diseksiyonu yapılmalıdır. Multivisseral rezeksiyon lokal ileri kolorektal kanserlerde uygun bir yaklaşımdır. Rezeksiyon küratif yapılmalı, şüpheli lenf nodlarından örnekleme yapılmalıdır. Randomize çalışmalardan elde edilen verilere göre lokal ileri rektal kanserlerde cerrahi öncesi neoadjuvan (preoperatif) kemoradyoterapi verilmesi yaygın bir uygulamadır. Komşu organlara invaze lokal ileri kolon kanserli hastalarda neoadjuvan kemoradyoterapinin yararı ile ilgili veriler sınılıdır, herhangi bir fikir birliği yoktur. Olgu sunumu ve olgu serilerinde neoadjuvan kemoterapinin kolon kanserinde faydalı olabileceği belirtilmiştir (101, 102). 2016 yılında tamamlanan faz 3 FOxTROT çalışması radyolojik olarak evrelendirilmiş lokal ileri operabl primer kolon kanserli hastalarda neoadjuvan KT'nin kabul edilebilir toksisite veya morbiditeye sahip olduğu ve de kaydadeğer patolojik cevap ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (103).

Küratif cerrahi rezeksiyon sonrasında postoperatif (adjuvan) kemoterapinin amacı, mikrometastazları yok etmek, hastalık rekürrens olasılığını azaltmak ve kür oranını arttırmaktır. Adjuvan KT ile evre III (nod-pozitif) hastalarda nüksün %30 ve mortalitenin % 22-32 azaldığı gösterilmiştir.

Evre II (rezeke edilmiş nod-negatif) hastalar adjuvan tedavi için risk faktörleri açısından değerlendirilmelidir. Düşük riskli evre II hastalarda adjuvan tedaviye gerek yoktur. Yüksek riskli evre II (T4, kötü diferansiye tümör, lenfovasküler invazyon, tümör obstrüksiyonu veya perforasyonu, pozitif cerrahi sınır, yetersiz lenf nodu diseksiyonu) hastalarda adjuvan tedavi verilebilir. 5-FU/Lökovorin (LV), oksaliplatin, kısa dönem fluorourasil ve lökovorin (FOLFOX), tek ajan kapesitabin, kapesitabin/oksaliplatin (XELOX) veya bolus 5-FU/LV/oksaliplatin (FLOX) adjuvan tedavide seçilebilir (104). Floropirimidin bazlı adjuvan kemoterapinin yararı evre III hastalığı olanlarda açıkça gösterilmiştir. Randomize kontrollü çalışmalar ve meta-analizler, evre II hastalarda floroürasil (FU) bazlı kemoterapinin yararı belirtilmekle birlikte beş yıllık sağkalımda etkisi gösterilememiştir.

Nüks riskini ve kemoterapiden tahmini faydayı değerlendirmede: rezeke edilen lenf nodu sayısı, yüksek risk klinikopatolojik özellikler (cerrahi örnekte 12'den az lenf nodu, T4 veya perfore/obstrükte lezyon), kötü diferansiye histoloji (taşlı yüzük ve müsinöz), lenfovasküler veya perinöral invazyon, mismatch repair enzyme (MMR) durumu, V600E BRAF mutasyon varlığı dikkate alınmalıdır. Artmış mikrosatellit instabilitesi olmayan hastalarda prognoz daha iyidir ve adjuvan fluoropirimidin bazlı tedaviden fayda görülmez.

Evre III KRK tanılı hastalar adjuvan kemoterapiden en fazla fayda gören gruptur ve sağkalım avantajı sağladığı gösterilmiştir. Evre III kolon kanseri hastalarında rezeksiyondan en geç 6-8 hafta sonra adjuvan kemoterapiye başlanmalıdır. Oksaliplatin kolorektal kanserde aktivitesi olan tek platin türü ilaçtır. Oksaliplatin tolere edebilen hastalarda oksaplatin bazlı rejimler fluorourasil (FU) ve lökovorin (LV) veya kapesitabine göre daha etkindir. Nod-pozitif kolon kanserli hastalarda çoğunlukla oksaliplatin bazlı KT rejimleri önerilmektedir, ancak olsaliplatinin yaşlı hastalardaki yararı tartışmalıdır. FOLFOX (oksaliplatin, LV ve kısa süreli FU infüzyonu) rejimi evre III kolon kanseri için standart rejimdir. Hem XELOX (oksaliplatin ve oral kapesitabin) hem de FLOX(oksaliplapin, bolus 5-FU ve LV) daha toksiktir; ancak infüzyon pompası takılamayan hastalarda tercih edilebilirler. Kapesitabin bir ön ilaç olan floropirimidindir ve enzimatik aktivasyon ile hücre içinde 5-FU'ya dönüşür. Evre III KRK hastalarında XELOX rejimi ile FU/LV rejimi karşılaştırıldığında xelox alan hastalarda hastalıksız

sağkalım ve genel sağkalım anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Ayrıca XELOX daha az greyd 3-4 nötropeni, febril nötropeni, stomatit ve alopesi ile ilişkili bulunmuştur. Fakat XELOX alan grupta nörotoksisite, greyd 3-4 el-ayak sendromu ve trombositopeni daha fazladır. Yüksek düzeyde mikrosatellit instabilitesi olan veya bir veya daha fazla MMR gen eksikliği(dMMR) olan tümöre sahip hastalarda tek başına floroprimidinlerin kullanılması önerilmez. Prospektif çalışmalardan elde edilen verilere göre FU a oksaliplatinin eklenmesi ile KT direnci önlenebilmektedir. Rezeke edilmiş kolon kanserinde standart yaklaşımda irinotekan içeren KT adjuvan tedavide önerilmez. Evre III KRK hastalarında yapılan çalışmalarda irinotekan rejiminin FU / LV'ye sağkalımda üstünlüğü gösterilememiştir (105). Benzer şekilde evre III veya obstrükte/perfore evre II kolon kanseri hastalarında FOLFİRİ ve FU/LV rejimlerinin karşılaştırıldığı ACCORD çalışmasında irinotekan ile anlamlı sağkalım avantajı gösterilememiştir (106).

Kolon kanserinin adjuvan tedavisinde Bevacizumab içeren KT kullanımı standart bir yaklaşım değildir. Bevacizumab tümör ilişkili anjiyogenezi kontrol eden vasküler endotelyal büyüme faktörünü (VEGF) hedefleyen humanize bir monoklonal antikordur. Metastatik KRK hastalarında FU, LV, irinotekan veya oksaliplatin bazlı rejimlere bevacizumab eklemenin hastalık sonuçlarının iyileştirdiği gösterilmiştir (107). Kanama, hipertansiyon, bağırsak perforasyonu ve tromboembolik olaylar bevacizumaba bağlı yan etkilerden bazılarıdır. Evre II veya III kolon kanserinde standart KT rejimine bevacizumab eklemenin sağkalım avantajı sağlamadığı gösterilmiştir (108).

Setüksimab, epidermal büyüme faktörü reseptörünü (EGFR) hedefleyen bir fare / insan kimerik monoklonal antikorudur. Metastatik KRK tedavisindeki faydası RAS genlerinin birinde mutasyon olmayan (wild-tip RAS) hastalar ile sınırlıdır. RAS geni WT olan rezeke edilmiş evre III kolon kanserli hastalarda adjuvan tedavide etkinliği gösterilememiştir (109, 110).

2.1.10.2. Evre IV (Metastatik) KRK'lerde Tedavi

Metastatik kolorektal kanserli hastalar için tedavi yaklaşımı palyatiftir ve genellikle sistemik kemoterapiden oluşur. Hastaların yaklaşık %20'si tanı anında metastatiktir. Metastatik KRK tanılı hastalarda karaciğer, akciğer, lenf nodları ve periton sık görülen metastaz bölgeleridir. Akciğer veya karaciğerde izole metastazı olanlar, lokal rekürrensi olanlar ve sınırlı intraabdominal hastalığı olanlar cerrahi eksizyondan fayda görürler. Kemoterapi ise metastatik KRK'lerde palyatif olarak verilmektedir. Tedavi hedefi hayatta kalma süresini uzatmak ve yaşam kalitesini mümkün olduğunca arttırmaktır. Karaciğere sınırlı metastazı olan evre IV KRK'li hastalarda cerrahi olarak kür sağlanabilir. Başlangıçta unrezektabl KC metastazı olan hastalar bile KT yanıtı yeterliyse rezeksiyona uygun hale gelebilmektedir. Bu yaklaşım konversiyon tedavisi olarak tanımlanmaktadır. Palyatif tedavide objektif yanıt oranı (uzamış ve/veya progresyonsuz sağkalım) tedavi yararını gösteren en iyi gösterge değildir. Palyatif yaklaşımda stabil hastalık elde etmek tedavi başarısı olarak düşünülebilir (111).

2.1.10.2.1. Metastatik KRK'lerde Kemoterapi

Metastatik KRK hastalarında antitümör aktiviteye sahip farklı ilaç grupları onaylanmıştır. Floropirimidinler (5-FU, kapesitabin, S-1, tegafur-urasil [UFT]), irinotekan; oksaliplatin; EGFR hedefli insan monoklonal antikorlar(setuksimab ve panitumumab); VEGF hedefli monoklonal antikor(Bevacizumab) ve VEGF reseptör 2'e bağlanan ve reseptör aktivasyonunu inhibe eden rekombinan antikor (ramucirumab); intravenöz aflibercept; Anjiyogenik, stromal ve onkojenik kinazları oral inhibitörü regorafenib; nükleozid analog trifluridin içeren oral sitotoksik ajan trifluridin-tipirasil (TAS-102) mevcut tedavide yer almaktadır. Klinik rehberlerde hedefe yönelik tedavilerle kombine veya tek başına FOLFOX, FOLFİRİ (5-FU, LV, İrinotekan), XELOX, infüzyonel FU/LV veya kapesitabin ve FOLFOXIRI şemaları yer almaktadır.

Metastatik KRK'li hastaların birçoğu asemptomatiktir. KT'nin optimal zamanlaması ile ilgili veriler kısıtlıdır. Rezeke edilemeyen metastatik KRK'li hastalar semptomatik hale gelmeden önce KT başlanması önerilmektedir. Metastatik KRK hastalarının birinci basamak tedavisinde LV ve 5-FU tedavisi ile İrinotekan (FOLFİRİ) veya oksaliplatin (FOLFOX) kombinasyonu standart tedavi yaklaşımıdır. Üçlü ilaç kombinasyonunu tolere edemeyen hastalarda kısa süreli FU / LV infüzyonu önerilir. Oral kapesitabin tek başına floroprimidinlerin endike olduğu durumlarda FU/LV rejimine uygun bir alternatiftir.

Floroprimidinler timidilat sentetazı (TS) bloke ederek DNA sentezini bozar. FU, dihidropirimidin dehidrojenaz (DPD) enzimi ile metabolize edilir. DPD eksikliği ciddi ve fatal etkilerin gelişiminden sorumludur. Irinotekan+kapesitabin (CAPIRI) kombinasyonunun FOLFIRI ile karşılaştırıldığı meta-analiz sonucunda her iki rejimin benzer etkinlik ve yan etki profile sahip olduğu gösterilmiştir (112). FOLFIRI ve CAPIRI rejimlerinin kafa kafaya karşılaştırıldığı bir başka çalışmada ise FOLFIRI rejimi etkinlik ve tolerabilite açısından üstün bulunmuştur. CAPIRI alan hasta grubunda greyd 3-4 diyare, bulantı-kusma, dehidratasyon gibi yan etkiler görülme oranları fazladır (113).

Oksaliplatin bazlı KT rejimlerinin metastatik KRK'li hastaların birinci basamak tedavisinde kullanımı artmaktadır. Oksaliplatin bazlı KT sonrası progresyonda ikinci sıra tedavide irinotekan bazlı KT kullanılabilir. Metastatik KRK hastalarında birinci basamak tedavide FOLFOX-6 veya FOLFIRI rejiminden herhangi biri verilebilir. Tournigand ve ark.'nın FOLFOX-6 ve FOLFİRİ rejimlerini karşılaştırdığı bir çalışmada iki grup arasında uzamış sağkalım ve etkinlik benzer olarak bulunmuştur. Fakat toksisite profilleri bibirinden farklıdır (114). Metastatik KRK hastalarında birinci basamak tedavide CAPOX ve FOLFOX rejimleri karşılaştırıldığında etkinlik benzer fakat toksisite profili farklı bulunmuştur. Faz 2 TREE-1 çalışmasında FOLFOX ve CAPOX rejimleri karşılaştırıldığında yanıt oranları ve sağkalım benzer bulunmuştur (115).

2.1.10.2.2. Metastatik KRK'lerde Hedefe Yönelik Tedaviler

Klinik araştırmalardaki artışa rağmen tedavide ilaçların kombinasyonu ve sıralamasına ilişkin net bilgi henüz oluşturulamamıştır. Günümüzde metastatik KRK'de tedavi hedefi olarak epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve VEGF/VEGFR sinyal yolağı ön plana çıkmıştır.

EGFR hedefli ilaçlar: Setüksimab ve panitumumab EGFR'yi hedefleyen monoklonal antikorlardır ve RAS geni mutasyonu olmayan (wild tip) hasralarda KT ile birlikte veya tek başına verilebilirler. Tümörde BRAF V600E mutasyonu taşıyan hastalarda EGFR hedefli ajanlara yanıtın daha düşük olduğu gösterilmiştir. BRAF mutasyonu ayrıca kötü prognoz ile de ilişkili bulunmuştur. BRAF V600E mutasyonunun prediktif değere sahip olduğu görülmektedir. RAS geni wild tip olan fakat BRAF V600E mutant olan tümörlerde EGFR-hedefli ajanlara yanıtın olası olmadığı gösterilmiştir (116, 117). RAS geni WT olan BRAF V600E mutant olan hastalara anti-EGFR ajana BRAF inhibitörünün(vemurafenib) eklenmesinin ilaç direnci önleyebileceği ile ilgili araştırmalar devam etmektedir. RAS/BRAF wild tip tümörü olan ve başlangıçta setüksimab/panitumumab artı FOLFOX/FOLFIRI ile tedavi edilen hastalarda ikinci basamak tedavide bevacizumab ve KT kombinasyonu alternatif olabilir. KRAS ve BRAF mutasyonu olanlarda RAS-RAF-ERK yolu EGFR'den bağımsız olarak aktive olur ve bu hastalar anti-EGFR tedaviye dirençlidirler (118). CRYSTAL çalışmasında metastatik KRK'lerde setüksimabın FOLFIRI ile kombinasyonunun progresyonda %15 azalma, yanıt oranında %10 artış ile sonuçlandığı gösterilmiştir (119). EPOC çalışmasında potansiyel olarak rezektabl izole KC metastazı olan KRK hastalarında FOLFOX rejimine setüksimab eklemenin progresyonsuz sağkalımda azalmaya yol açtığı belirtilmiştir (120).

Setüksimab ve panitumumabın etki mekanizmaları aynıdır; ancak setüksimab kimerik yapıda iken panitumumab insan monoklonal antikorudur ve daha az antijeniktir. Faz 3 ASPECCT çalışmasında monoterapide panitumumab ile setüksimabın etkinlikleri benzer bulunmuştur (121). Setüksimaba dirençli hastalarda panitumabın yararı olup olmadığı tartışmalıdır. Faz 3 PRİME çalışmasında metastatik KRK'de birinci basamak

tedavide oksaliplatin bazlı rejime(FOLFOX) panitumumabın eklenmesinin progresyonsuz sağkalım avantajı sağladığı gösterilmiştir (122).

RAS geni WT olan metastatik KRK'lerde EGFR hedefli tedavilerin prognostik öneme sahip olabileceği gösterilmiştir (123). KRAS egzon 2 WT olan metastatik KRK hastalarında birinci basamak tedavide setüksimab ve bevacizumabın karşılaştırılmasında sol taraflı tümörlerde setüksimbın genel sağkalım avantajı sağladığı gösterilmiştir. Primer tümörü sağ kolonda olan hastalarda ise bevacizumab üstün bulunmuştur. Benzer sonuçlar FİRE-3 ve CRYSTAL çalışmalarının retrospektif analizlerinde de kaydedilmiştir (124).

Antianjiyojenik tedavi: Anti-VEGF tedaviler ile damar endotel hücrelerindeki VEGF bloke edilir. Bevacizumab ve Ramucirumab gibi monoklonal antikorlar, ziv-aflibercept füzyon proteini, VEGF ile stimüle edilen tirozin kinazları inhibe eden oral küçük moleküller (lapatinib, sunitinib, sorafenib, axitinib, pazopanib) bu grupta yer alır. Bevacizumab rekombinant humanize monoklonal IgG1 antikorudur. İnsan VEGF'nin biyolojik aktivitesini inhibe eder. Ziv-aflibercept insan VEGF reseptörleri 1 ve 2'nin hücre dışı etki kısımlarındaki damar endotelyal büyüme faktörü (VEGF) bağlama bölgeleri ile insan immunoglobulin G1'in Fc parçalarının füzyonu sonucu oluşturulan bir rekombinant füzyon proteinidir. Hem VEGF'yi ve hem de Plasental growth faktörü (PlGF) bağlar ve VEGF trap olarak adlandırılır. Daha once oxaliplatin rejimi almış veya ilaç direnci olan metastatik kolorektal kanserli hastalarda FOLFIRI kombinasyonu ile verildiğinde sağkalımı uzattığı gösterilmiştir. Ramucirumab ise VEGFR-2'e bağlanarak reseptör aktivasyonunu bloke eden IgG1 sınıf rekombinant monoklonal bir antikordur. Ramucirumab birinci basamak tedavide bevacizumab, oksaliplatin ve floropirimidin içeren rejim almış ve progrese olmuş metastatik KRK tedavisinde FOLFİRİ rejimi ile birlikte verilebilmektedir. Tümördeki vasküler yapıda tümör hücrelerinde görülen RAS ve BRAF mutasyonu yoktur. Antianjiyojenik tedavi anti-EGFR MAPK yolağındaki mutasyonlardan daha az etkilenir (125).

VEGF ailesinin başta VEGF-A olmak üzere VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, orf virüs VEGF (VEGF-E) ve plasental büyüme faktörü(PLGF) gibi üyeleri vardır. Tümör dokusunda VEGF-A mRNA ve proteini belirgin şekilde artar. Bazı tümörlerde VEGF-

A'nın artmış ekspresyonu kötü prognoz ile ilişkilidir. Bir hayvan tümör modelinde VEGF inhibisyonu ile tümör damarlanması % 50-60 azalmıştır İlacın kesilmesinden yedi gün sonra tümör dokusunun vasküler yapısının tamamen yeniden oluştuğu görülmüştür (126). Bununla birlikte meme, kolorektal, renal veya pankreas kanserli bevacizumab alan hastalarda randomize, plasebo kontrollü beş faz III çalışmasının retrospektif bir analizinde ilaç kesilmesinden sonra plasebo ile benzer progresyon ve mortalite oranları görülmüştür (127).

Bevacizumab, VEGF-A'nın tüm izoformlarını tanıyan ve anti-VEGF etki gösteren humanize monoklonal bir antikordur. Anti-VEGF tedavisinin etkinliğinin kanıtlandığı ilk malignite kolorektal kanserlerdir. Bevacizumabın yarı ömrü ortalama 20 gün (11-50 gün) civarındadır. Bevacizumab dolaşımdaki VEGF'i bağlar, endotel proliferasyonunu ve yeni damar oluşumunu engeller. Ayrıca endotel hücre apoptozisini uyarır ve var olan damarlarda regresyon olur (128).

Metastatik kolorektal kanserlerde birinci basamak rejimlere bevacizumabın eklenmesinin ölüm oranında %19 azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (HR:0,81, 95% CI 0.70-0.93). Ancak birinci basamak tedavide bevacizumab ve kemoterapinin sadece KT ile karşılaştırıldığı çalışmaların havuzlanmış analizinde genel sağkalımda sadece iki ay avantaj sağlamıştır (19,8 ay ve 17,6 ay). Bunun yanında kanama, hipertansiyon, bağırsak perforasyonu ve tromboembolik olaylar gibi yan etkiler ve maliyet nedeniyle birinci basamakta kullanımı yaygın değildir (129).

Bevacizumabın tedaviye eklenmesi sonucunda objektif yanıt elde edilmese dahi sağkalım üzerine olumlu etkisi olduğunu gösteren çalışmalar vardır. IFL tedavisi ile birlikte bevacizumab alan ve almayan hastaların dahil edildiği bir çalışmada bevacizumabın yanıttan daha çok progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi olduğu gösterilmiştir (130). Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) kriterlerine göre bevacizumaba yanıtsız grubun bevacizumaba yanıt veren grup kadar fayda gördüğü tespit edilmiştir (131).

Birinci basamakta bevacizumab içeren KT rejimi ile tedavi edilen hastalarda progresyon dışında ikinci basamak tedavide bevacizumabın floropirimidin bazlı KT rejimi ile

birlikte kullanımı standart bir yaklaşımdır. Bununla birlikte RAS wild-tip tümörlü ikinci basamakta irinotekan bazlı rejim alan hastalarda bevacizumab ile anti-EGFR antikoru birlikte kullanılmamalıdır.

Bevacizumab ve KT kombinasyonu sonrası hastalık progresyonu durumunda anti-VEGF tedaviye devam etmenin sağ kalımı arttırabileceğine ilişkin veriler vardır. Avrupa temelli TML çalışmasında birinci basamakta KT ile bevacizumab aldıktan sonraki üç ay içinde progrese olan unrezektabl metastatik KRK hastaları randomize edilmiştir. İkinci basamakta tedavide KT rejimi ile bevacizumabın devam etmesinin progresyonsuz ve genel sağkalımda belirgin fayda sağladığı görülmüş, ayrıca bevacizumaba bağlı yan etkilerde artış görülmemiştir (132). BEBYP çalışmasında da birinci basamakta KT ile bevacizumab almış hastalarda ikinci basamak tedavide bevacizumabın devamı ile medyan PFS artışı gösterilmiştir (133).

Bevacizumabın KRK dışında onay almış endikasyonları: Lokal ileri ve metastatik non-skuamöz hücreli akciğer kanseri, persistan, rekürren, metastatik servikal kanser, progresif glioblastoma, platin bazlı KT dirençli epitelyal over kanseri, fallop tüp kanseri, Primer peritoneal kanser, metastatik renal hücreli kanserdir.

Bevacizumab yan etkileri: Tüm monoklonal antikorlar gibi aşırı duyarlılık reaksiyonlarına yol açabilirler. Bu nedenle ilk uygulamada yavaş infüzyon ile verilmesi önerilmektedir. Bevacizumaba bağlı potansiyel olarak en ciddi yan etkiler: proteinüri ve nefrotik sendrom, hipertansiyon, kanama, gastrointestinal perforasyon ve arteriyel ve venöz tromboembolik olaylar ve konjestif kalp yetmezliğidir. Proteinüri ve nefrotik sendrom riski nedeniyle aralıklı idrar analizi tavsiye edilir. Ancak artmış proteinüri nadiren tedavi kararlarını etkilemektedir (134). Proteinüri genellikle asemptomatik saptanır. Hipertansiyon sıklıkla proteinüriye eşlik eder. Hafif proteinüri sıklığı %21 ile %63 arasında değişirken, greyd 3-4 proteinüri yaklaşıl olarak hastaların %2'ini oluşturur. Tedavi süresi ile proteinüri arasındaki ilişki ve proteinüri gelişiminin antitümör etkinliğinin bir belirleyicisi olup olmadığı bilinmemektedir (135). Literatürde Anti-VEGF tedavi sonucu gelişen proteinüri tedvaisi ile ilgili kılavuzlar yetersizdir. Protein atılımı > 2 g/24 saat ise ilacın geçici olarak kesilmesi ve nefrotik sendromu geliştiren hastalarda ilacın bırakılması dışında öneri yoktur (136).

Fare modellerinde yüksek dereceli VEGF inhibisyonunun reversibl eritrositoz, retikülositoz ve kırmızı kan kütlesindeki artış ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Eritrositozun mekanizması bilinmemesine rağmen VEGFR-2'nin inhibisyonu ve ardından nitrik oksitin azalmasının neden olduğu intravaskiler sıvı hacminin azalması veya hepatik eritropoietin sentezi ile ortaya çıkan eritropoiezin artması nedenler arasında olabilir (137).

Meta-analizler bevacizumab ile kanama riskinde artış olduğunu göstermiştir. En sık greyd 1 epistaksis görülürken, hemoptizi, gastrointestinal kanama, hematemez, intrakranial hemoraji, vajinal kanamalar gibi ciddi ve fatal kanamalarda bildirilmiştir. Beyin metastazı olan ve bevacizumab ile tedavi edilen hastalarda intrakranial kanama riskinde artış ile ilgili endieler ortaya çıkmıştır (138). Veriler beyin metastazı olan ve bevacizumab verilen hastalardaki intrakranial kanama riskinin verilmeyenlerle benzer olduğunu göstermiştir. Beyin metastazı olan hastalar bevacizumabdan bağımsız olarak intrakranial kanama riski taşırlar (139).

Bevacizumab çeşitli durumlarda yara iyileşmesinde gecikme ile ilişkilidir. Bevacizumabın uzun yarılanma ömrü nedeniyle cerrahi öncesi ve sonrasında en az 4-6 hafta süreyle uygulanması önerilmez (140).

Tüm VEGF hedefli tedaviler gastrointestinal perforasyona ve fistül oluşumuna neden olabilir, ancak bu komplikasyon en sık bevacizumab alan hastalarda tanımlanmıştır. Gastrointestinal perforasyon peritonit, fistül oluşumu veya intraabdominal abseye yol açabilmektedir. Bu nedenle bevacizumab alan ve akut karın ağrısı gelişen hastalarda perforasyon şüphesi akla gelmelidir.

VEGF vazodilatatör nitrik oksidin üretimine araclık ederek vasküler hemostazisin sürdürülmesinde kilit rol oynar. VEGF etkisi ile yeni kan damarlarının oluşumu vasküler direnci azaltır. VEGF inhibisyonunun hipertansiyon (HT) ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ciddi yan etkiler kontrolsüz HT ile ilişkili olduğundan bevacizumab alan hastalarda tedavinin ilk birkaç haftasında kan basıncı aktif olarak izlenmelidir.

HT gelişen hastalar (kan basıncı ≥140 mm Hg / 90 mmHg veya başlangıçta diyastolik kan basıncında 20 mm artış olarak tanımlanır) antihipertansiflerle tedavi edilmelidir. Optimal anthipertansif seçimi tanımlanamamıştır. Tedavide başta ACE inhibitörleri olmak üzere standart antihipertansif tedaviler önerilmektedir ve çoğu kez bu önlemler yeterli olmaktadır. Kontrol altın alınamayan ciddi HT ve hipertansif kriz durumunda bevacizumab tedavisinin kesilmesi önerilmektedir.

2.1.11. Prognoz

KRK'lerde en önemli prognostik faktör tanı anındaki patolojik evredir. Hastalardaki 5 yıllık sağkalım oranları TNM sistemindeki evrelerine göre değişmektedir. Tanı sırasındaki patolojik evrenin ötesinde, KRK için en önemli prognostik belirleyiciler ekstramural tümör depozitleri, lenfovasküler ve perinöral invazyon, histolojik farklılaşma greydi, preoperatif serum karsinoembriyonik antijen (CEA) düzeyi, mikrosatellit instabilitesi (MSI) ve RAS ve BRAF mutasyonları varlığıdır.

2.1.11.1. Patoloji ile İlgili Özellikler

Hastalığın lokal yayılımı (tümör penetrasyon derinliği) bağımsız olarak sağkalımı etkiler. Önceki veriler tümör boyutunun ve makroskobik konfigürasyonunun prognoza etkisinin olmadığını göstermiştir. Bununla beraber yeni veriler tümör boyutunun kolon kanseri için olumsuz bir faktör olduğunu, rektal kanserler için olmadığını düşündürmektedir (141). Toplam boyutun 4,5 cm üzerinde olması bağımsız bir kötü prognoz göstergesidir. Ancak boyut ve prognoz arasındaki bu ters ilişki kolondaki anatomik konuma göre değişmektedir, sağdan sola doğru azalmaktadır.

Lokal tedavi (cerrahi) sonrası rezidü tümör kalması olumsuz prognostik bir faktördür. Rektal kanserlerde cerrahi sınır negatifliği hem lokal ve uzak organ nüksleri hem de

sağkalım için önemli belirleyici faktörlerden biridir (142). Preoperatif radyoterapi almayan, cerrahi sınırı pozitif olan hastalar lokal tümör derinliğine bakılmaksızın postoperatif radyoterapi için adaydırlar.

Bölgesel lenf nodu tutulumu sağkalımı belirleyen önemli faktörlerden biridir. KRK'lerde lenf nodu tutulumu ayrıca adjuvan tedavi gerekliliğini de belirlemektedir. Lenf nodu tutulumu tümörün transmural invazyonu ve tümörün histolojik greydi ile de ilişkilidir. Tutulan lenf nodu sayısı klinik gidişin güçlübir göstergesidir. Cerrahi örnekteki toplam lenf nodu sayısı hem evre II (nod negatif) hem de evre III (nod pozitif) hastalık için prognozu doğrudan etkilemektedir (143). Tutulan lenf nodu sayısının cerrahi olarak çıkarılan lenf nodu sayısına oranının prognoz ile ilşkili olabileceğini gösteren çalışmalar olmakla beraber ilave prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır (144). Farkılıklar olmasına rağmen, uzman grupların kılavuzları, nodal durumu doğru belirlemek için en az 12 lenf nodunun histolojik incelenmesini önermektedir. Çıkarılan lenf nodu sayısının 12'den az olması ise olumsuz bir faktör olarak kabul edilmektedir (145).

Lenfovasküler invazyon, perinöral invazyonun kötü prognoz ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar vardır. Prognostik önemi göz önüne alındığında perinöral ve lenfovasküler invazyon yüksek riskli evre II kolon kanseri tanımında yer alan faktörlerdendir. TNM evrelemesini etkilememesine rağmen histopatolojik olarak kaydedilmesi gerekmektedir. Evre II kolon kanserinde olumsuz risk faktörlerinin varlığı adjuvan kemoterapi kararını etkileyebilmektedir.

KRK'lerde histolojik tipin bağımsız bir prognostik faktör olup olmadığı tartışmalıdır. NCCN, American Society of Clinical Oncology (ASCO) ve European Society for Medical Oncology (ESMO) kötü diferansiye histolojiyi yüksek riskli evre II hastalığı tanımlamak için kullanılan kötü prognostik faktör olarak belirtmişlerdir (146). Önemli bir nokta, üç kılavuz kötü diferansiye histolojiyi kötü prognostik olarak tanımlarken bunun sadece mismatch onarım (MMR) proteini olmayan tümörlerde (mikrosatelit kararsız [MSI-H]) olduğu kabul edilmiştir. DSÖ'nün 2010 sınıflamasında ise kötü diferansiasyonun MMR olan olgularda yüksek greyd yerine düşük greyd lehine olduğu belirtilmiştir (147).

Birçok tümör müsin üretmektedir. Müsin birikimi intraselüler veya ekstraselüler olabilir. Ekstraselüler müsin tümör duvarından geçer ve lokal yayılıma neden olur. Bol miktarda ekstraselüler müsin üreten tümörler müsinöz karsinom olarak sınıflandırılır. İntraselüler müsin üreten tip taşlı yüzük hücreli karsinom olarak adlandırılmaktadır ve kötü prognoz a sahiptir (148). Tümör bölgesi, MMR durumu ve preoperatif tedavinin etkisi (rektal kanserler için) müsinöz histolojinin prognostik etkisini etkileyebilir.

Tümörün sınırının konfigürasyonu evreden bağımsız olarak prognostik öneme sahiptir. Özellikle düzensiz, infiltratif patern, ekspansil büyümenin kötü prognostik özellik taşıdığını gösteren çalışmalar vardır (149). Tümör içi mikrodamar yoğunluğu, tümör kaynaklı anjiyogenezin bir yansımasıdır. Birkaç çalışmada mikrodamar yoğunluğu daha kısa sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (150).

Primer tümör lokasyonu KRK'de prognostik bir faktördür. Sol taraf yerleşimli tümörlerde ölüm oranı riskinin evre, ırk, adjuvan kemoterapi kullanımından bağımsız olarak azaldığı gösterilmiştir (151). Bir çalışmada RAS wild tip tümörü olan popülasyonda sol taraflı tümörlerde prognozun daha iyi olduğu gösterilirmişken, başka bir çalışmada RAS mutant ve BRAF mutant olmayan sağ tarflı tümörlerde daha iyi prognoz gösterilmiştir (152, 153).

Birçok kanser türünde olduğu gibi, tümörü infiltre eden lenfositlerin varlığının birçok çalışmada olumlu prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (154). Daha yakın zamanda farklı tipte bir T hücresi olan regülatuar T hücrelerinin (CD4 + CD25 + T lenfosit) antitümör immün yanıtı modüle ettiği gösterilmiştir. KRK'de artmış regülatuar T hücre yoğunluğu ile prognoz iyileşmiştir (155).

Lenfoid infiltrasyon MMR eksikliği olanlarda (Mikrosatellit instabil) uygun bir prognostik belirteç olabilir. Bol miktarda lenfoid hücre içeren tümörlerin sıklıkla DNA MMR genlerindemutasyon vardır ve yüksek düzey mikrosatellit instabilitesine (MSI-H) sahiptir. MSI-H olan KRK alt gruplarındaki iyi prognoz sitotoksik T lenfositlere özgü genlerin aşırı ekspresyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (156).

2.1.11.2. Klinik ile İlişkili Özellikler

Preoperatif karsinoembriyonik antijenin (CEA) yüksek seviyede olması ve obstrüksiyon veya perforasyon varlığının olması prognoz ile ilişkilidir. CEA düzeyinin >5ng/mL olması tümör evresinden bağımsız olarak kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Lenf nod-negatif ve yüksek preoperatif CEA düzeyi olan hastaların, nod-pozitif ve normal preoperatif CEA düzeyi olan hstalara göre daha kötü prognoza sahip oldukları gösterilmiştir. Eşlik eden risk faktörleri de gözden geçirilerek adjuvan tedavi açısından değerlendirilmeleri önerilmektedir (157, 158).

Tanı anında obstrüksiyon veya perforasyon varlığının kötü sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Perforasyon veya obstrüksiyon nedeniyle acil cerrahi endikasyonu olan hastaların daha agresif histopatolojik profile sahip olduğu görülmüştür (159). NCCN ve ESMO rehberleri hem obstrüksiyonu hem de perforasyonu kötü prognoz ile ilişkili bulurken ASCO sadece yalnızca perforasyonu kötü prognoz ile ilişkli olarak değerlendirmiştir (146, 160).

2.1.11.3. Moleküler Faktörler

KRK'lerde prognostik değer oluşturabilecek birçok moleküler belirteç vardır. MMR eksikliğinin belirlenmesinin klinik önemi olduğu saptanmıştır. MMR eksikliği Lynch sendromunda ve sporadik KRK'lerin % 10-20'inde saptanmaktadır. MMR eksikliği (MSI-H) çok sayıda DNA replikasyon hatası ile ilişklidir. Mikrosatellit lokuslarının ≥%30'unda instabilite MSI-H olarak tanımlanmıştır. Lokalize KRK hastalarında MMR eksikliği(MSI-H) olan tümörlerde MSI-düşük veya mikrosatellit stabil olan tümörlere göre daha uzun sağkalım ile ilişkilidir. MSI-yüksek (MMR eksikliği) tümörlerde daha iyi prognoz olmasına rağmen adjuvan fluorourasil (FU) bazlı kemoterapiden MSI-yüksek hastalar daha az fayda görürler (161, 162).

EGFR kolorektal kanserlerde aktif yolaklardan biridir. Anti-EGFR tedavisi düşünülen KRK hastalarında RAS (KRAS ve NRAS) mutasyonu değerlendirilmedir. RAS ve BRAF mutasyonu varlığı daha düşük sağkalım ile ilişkildir (163). Lynch sendromu riskini değerlendirmek için MLH1 kayıplı MMR eksikliği olan tümörlerde BRAF p.V600 mutasyon analizi yapılmalıdır. BRAF mutasyonunun varlığı sporadik tümörü güçlü şekilde desteklerken, BRAF mutasyonunun olmaması Lynch sendromunu dışlamaz.

Anti-EGFR inhibitörlerine yanıtta BRAF mutasyon durumunun değerlendirilmesinin prediktif bir moleküler biyomarker olarak kullanılması için yeterli kanıt yoktur. BRAF p.V600 mutasyonu hem erken evre hem de ileri evre/rekürren tümörler için güçlü negatif prognostik bir belirteçtir (164). En son TNM evrelemesinde BRAF mutasyonlarının hem prognostik hem de prediktif öneme sahip olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle evre II KRK ve sonrasında RAS ve BRAF mutasyon durumu için yapılan testler rutin patolojik değerlendirmenin bir parçası haline gelmiştir.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Hastalar, tedavi protokolleri, hasta kan örneklerinin hazırlanması

Ankara Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayını takiben Kasım 2014 tarihi itibariyle çalışmaya alınacak hastaların bilgilendirmesi, kan örneği alma işlemleri ve klinik takip açısından A.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Kliniğinden hekim, hemşire ve klinik araştırma uzmanından oluşan bir ekip için proje eğitimi verildi. Çalışmaya alınacak hastalarda tedavi seçimi konusunda herhangi bir öneride bulunulmadı. Çalışmaya 18-70 yaşları arasında metastatik kolon kanseri tanısıyla poliklinik müdavi hekimi tarafından bevacizumab içeren kemoterapi protokolü başlanması planlanan hastalar dahil edildi. Yakın zamanda (son 2 ay içinde) vücutta anjiyogenezi etkileyebilecek ameliyat, travma ya da bevacizumab dışında anti-anjiyojenik ilaç (tirozin kinaz inhibitörü, heparin, düşük molekül ağırlıklı heparin vb.) kullanan, beyin metastazı olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Hastaların çalışma için gereken klinik bilgileri, rutin laboratuvar testleri ve görüntüleme tetkik sonuçları kaydedildi. Çalışmaya A.Ü.T.F. Tıbbi Onkoloji bölümünden hastaların yanı sıra Ankara Onkoloji hastanesi, ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesinden hastalar da dahil edildi. Hastalardan alınan kan örneklerinin aynı gün içinde transferleri sağlandı.

Hastalara gerekli bilgilendirme yapılıp onamları alındıktan sonra lenfosit ve plazma ayırımında kullanılmak üzere EDTA'lı ve serum ayırımında kullanılmak üzere de normal biyokimya tüplerine 5'er ml kan örnekleri alındı. Kan örnekleri tedaviye başlamadan hemen önce (0. Gün), 2. kür sonu (4. ilaç uygulaması sonrası, ortalama 2. ay sonu) ve 4. kür sonu (Tedaviye 2 kürden fazla devam edenlerde) 3 kez alınması planlandı.

Periferik kanda bulunan lenfositler EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden dansite gradiyenti yöntemi ile ayrıldı. Kısaca, hücreler kan örneğinin 2 katı hacimde dansite gradiyenti oluşturan vasat (Stem Cell Technologies Lymphoprep Solution) içeren 15 ml lik konik uçlu tüpteki sıvı üzerine eklendi. 800 G'de 30 dakika santrifüjü takiben

lenfositleri içeren beyaz tabaka alınarak hücreler yıkandı ve daha sonra CD4, CD8 ve Treg hücre sayımlarında kullanıldı.

Hastaların birinci bevacizumab sonrası ve sekizinci uygulama (4. Kür öncesi) öncesi alınan kan örneklerinden anti-bevacizumab antikor düzeyleri ELISA ile tayin edildi. Matrix biyotek Shikari ELISA kiti kullanılarak dilüe edilmiş serum örnekleri insan VEGF ile kaplanmış mikrotitre plakada inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kuyular yıkandı ve sonrasında HRP konjuge prob (HRP) eklendi. İnkübasyon sonunda kromojen substrat ilavesiyle bağlanmış enzimatik aktivite tespit edildi.

3.2. Akım sitometrisi ile CD4, CD8 ve Treg hücre tayini

Hastaların tedavi öncesi ve tedavinin 2. Ayı (2. Kür) sonunda alınan kan örneklerinden izole edilen lenfositler FoxP3 pozitif regülatör T-hücreleri, ticari kitler (MACS Human Treg Detection Kit (CD4/CD25/FOXP3) ve Beckman Coulter CD8-PC7 Antikoru) kullanılarak boyandı ve FACS cihazında CD4+CD25+FoxP3+ hücrelerinin oranları tayin edildi.

3.3. Hastaların klinik takibi ve sağkalım analizleri

Çalışmaya alınan hastalar ilgili tıbbi onkoloji kliniklerinde takip edilmiş olup çalışma dolayısıyla hiçbir hastanın tedavisine müdahele edilmemiştir. Hastalar bilgilendirilmiş onamları alındıktan sonra çalışmaya dahil edilmiştir. İlgili kliniklerde takip edilen hastalardan bevacizumab tedavisinin başlangıcından hemen önce birinci kan örnekleri alınmıştır. Hastaların bevacizumab ile birlikte alacağı kemoterapi ilaçları kliniklerin tercihine göre standart dozlarda olmuştur. Bevacizumab 5 mg/kg dozunda kemoterapi ile birlikte uygulanmıştır. Her 4 bevacizumab uygulamasından yaklaşık 2 ay sonra BT veya MRG ile yanıt değerlendirmesi yapılmıştır. Tedavi cevaplarının değerlendirilmesinde RECIST kriterleri (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors)

uygulanmıştır. Tüm hedef lezyonların tamamen kaybolması ve bu durumun en az 1 ay süreyle devam etmesi tam remisyon (TR), hedef lezyonların çaplarının toplamında en az %30 ‘luk azalma olması parsiyel yanıt (PR), ne kısmi yanıt kadar azalan ne de progresif hastalık kadar artma göstermeyen lezyonlar(< %20 az büyüme veya < %30 az küçülme stabil hastalık (SH) veya 1 ya da daha fazla yeni lezyonun ortaya çıkması progresif hastalık (PH) olarak değerlendirildi. Bevacizumab başlangıcından progresif hastalık tespit edildiği zamana kadar geçen süre progresyona kadar geçen süre progresyonsuz sağkalım (PFS: progression-freee survival) ve bevacizumab başlangıcından hastanın ölümü ya da son kontrol tarihine kadar geçen süre genel sağkalım (OS: Overall survival) olarak alındı.

3.4. İstatistiksel yöntemler

Gruplar arasında ölçümle belirtilen parametrelerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi ve T-testi kullanıldı. Hastaların genel sağkalımı için bevacizumab tedavisinin başlangıcından hastanın ölümüne ya da son kontrol tarihine kadar geçen süre alındı. Progresyonsuz sağkalım için bevacizumab başlangıcından hastalık progresyonunun ilk tespit edildiği tarihe kadar geçen süre alındı. Tedavi öncesi ve conrası CD4/CD8 oranları ve Treg oranları inin cut-off değerleri hesaplanması ROC eğri analizi ile yapıldı. Youden indeksinde maksimum=senstivite + spesifite-1 formulüne göre maksimum olan değer cut-off değerleri olarak alındı. Sağ kalım analizleri Kaplan-Meier yöntemi ile hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Klinikopatolojik Özellikleri

Toplamda 84 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastaların tanı tarihleri 17.12.2010 ile 11.04.2017 arasında idi. Hastalara bevacizumab başlama tarihleri 05.09.2014 ile 02.08.2017 arasında idi. Hastaların 1 tanesi 1 doz bevacizumab sonrasında internal juguler vende tromboz nedeniyle bevacizumab kesilmiş ve çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya alınan hastaların çoğunluğunu erkek cinsiyet oluşturmaktadır (n=55). Çalışmadaki tanıdaki medyan yaş 61 olarak bulunmuştur (29-79). Hastaların tümör lokalizasyonu daha çok sol kolonda gözlenmiştir (n=61). Hastalar lokalizasyona göre ayrıldığında 14 tanesinin rektumda; 8 tanesinin rektosigmoid bileşkede; 61 tanesinin kolonda tanı anında tümör dokusu saptanmıştır. Hastaların tanıda primer tümör lokalizasyonu değerlendirildiğinde 22 hastada sağ kolonda, 61 hasta sol kolonda kaydedilmiştir. Hastaların 74 tanesi tanı anında metastatikti. En çok metastaz karaciğerde (n=56) görülmekle beraber izole karaciğer metastazı olanların oranı %27,7'dir.

KRAS mutasyonu 23 hastada mutant, 49 hastada wild tip iken 11 hastada KRAS mutasyonu bilinmiyordu. Hastaların 25 tanesi panRAS mutant olarak kaydedilmiştir.
Hastaların tümör patolojisi 73 hasta adeno CA, 10 hasta müsinöz tip adeno CA olarak kaydedilmiştir. Tümör greydi 1 hastada iyi diferansiye, 22 hastada orta diferansiye, 13 hastada kötü diferansiye idi. 47 hastanın tümör greydi bilinmiyordu. Çalışmamızdaki hastaların 24 tanesi 1. basamak, 50 tanesi 2. basamak, 9 tanesi ise 3. basamak KT ile beraber Bevacizumab tedavisi almıştır. Hastaların 44 tanesi (%53) irinotekan tabanlı (FOLFIRI, IFL, IRI), 38 tanesi (%45,8) oksaliplatin tabanlı (FOLFOX, XELOX) tabanlı rejimlerle beraber bevacizumab almıştır. 1 hastanın FOLFİRİNOX rejimi ile beraber bevacizumab aldığı kaydedilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Hastaların klinik özellikleri

Parametre	
Medyan yaş	61 (29-79)
Cinsiyet	
Kadın	28
Erkek	55
Primer tümör lokalizasyonu	
Sağ kolon	22
Solkolon	61
Tanıda metastatik	74
Nüks	9
Metastaz bölgeleri	
Karaciğer (Sadece karaciğer met. olanlar)	%69.9 (%27,7)
Akciğer	%34.9
Periton	%15.7
Lenf nodu ve yumuşak doku	%13.2
Histoloji	
Müsinöz adeno Ca	10
Adeno Ca	73
Greyd	
İyi diferansiye	1
Orta diferansiye	22
Kötü	13
Bilinmeyen	47
K RAS	
Wild	49
Mutant	23
Bilinmeyen	11
NRAS	
Wild	8
Mutant	6
Bilinmeyen	69
Uygulanan kemoterapi şemaları	
İrinotekan tabanlı	44
Oksaliplatin tabanlı	38
FOLFIRINOX	1
Bevacizumab	
1. basamak tedavide	24
2. basamak tedavide	50
3. basamak tedavide	9

4.2. Tedavi Etkinliği

Hastaların medyan kemoterapi sayısı 8,5 idi. Medyan bevacizumab uygulama sayısı 8 idi. Objektif yanıt oranı (tam yanıt + parsiyel yanıt) %31.9 idi. Hastalık stabilizasyon oranı %73.2 olarak bulundu. Medyan yanıt süresi 6 ay idi. Hastaların bevacizumab başlangıcından itibaren medyan progresyonsuz yaşam süresi 6.00±0.66 ay (4.71-7.29), medyan sağkalım süresi 15.00±0.84 ay(13.35-16.65) olarak bulundu (Tablo 4.2).

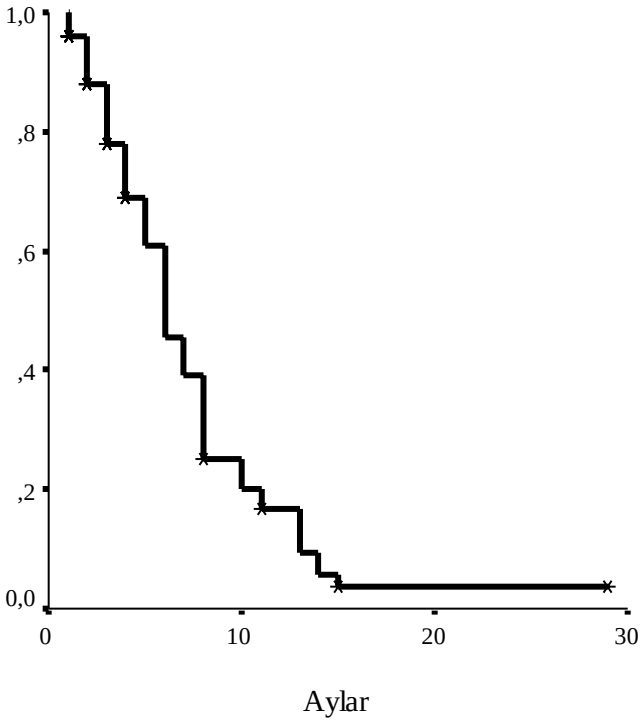
Tablo 4.2. Tedavi sonuçları

Kemoterapi medyan sayısı (dağılım)	8.5 (2-30)
Bevacizumab medyan uygulama sayısı (dağılım)	8 (2-28)
Objektif yanıt (tam yanıt + parsiyel yanıt)	%31.9
Hastalık stabilizasyon oranı	%73.2
Medyan yanıt süresi	6 ay
Medyan takip süresi (dağılım)	25+ ay (10-44)
Medyan Progresyonsuz yaşam süresi (PFS) (%95 GA)	6.00±0.66 ay (4.71-7.29)
Medyan sağkalım süresi (bevacizumab başlangıcından itibaren) (%95 GA)	15.00±0.84 ay(13.35-16.65)

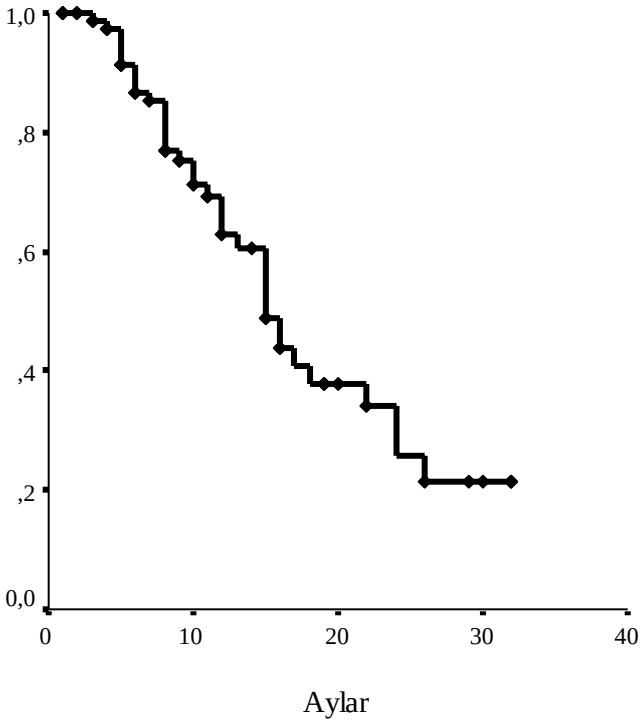
GA: Güven aralığı

4.3. Progresyonsuz Sağkalım (PFS) ve Genel Sağkalımı (OS) Etkileyen Faktörler

Klinikopatolojik özellikler (yaş, cinsiyet, primer tümör yerleşimi, tanıda metastaz durumu, KRAS mutasyonu, NRAS mutasyonu, uygulanan kemoterapi şemaları), kemoterapi sayısı, bevacizumab uygulama sayısının OS ve PFS üzerine etkileri değerlendirildi. Çalışmamızda medyan PFS 6.00±0.66 ay (4.71-7.29) (Şekil 4.1) ve medyan OS 15.00±0.84 ay(13.35-16.65) (Şekil 4.2) olarak bulunmuştur.



Şekil 4.1. Tüm hasta grubunda progresyonsuz sağkalım (PFS) eğrisi.



Şekil 4.2. Tüm hasta grubunda genel sağkalım (OS) eğrisi.

4.4. Akım sitometrisinde lenfosit alt grupları ve T-reg düzeyleri analizleri

FoxP3 pozitif regülatör T-hücreleri, ticari kitler (MACS Human Treg Detection Kit (CD4/CD25/FOXP3) ve Beckman Coulter CD8-PC7 Antikoru) kullanılarak boyandı ve FACS cihazında CD4+CD25+FoxP3+ hücrelerinin oranları tayin edildi (Şekil 4.3). Ayrıca yine periferik lenfositlerden CD4+ ve CD8+ hücre oranları FACS cihazında tayin edildi.

Çalışmamızda tedavi öncesi bakılan CD4+/CD8+ hücre oranı 1,63 (0.21-4.42) olarak bulundu. Youden indeks maximum & 2,26 olarak saptandı. Tedavinin 2. ayı sonunda bakılan CD4+/CD8+ hücre oranı ise 1,81 (0,25 – 9,78) olarak bulundu. Youden indeks maximum & 1,83 olarak saptandı. CD4+CD25+FoxP3+ hücresinin yüzde düzeylerine bakıldığında tedavi öncesi %0,385 (%0,03-4,82) iken, tedavinin 2. ayı sonunda %0,32

(%0,02-1,92) olarak bulunmuştur. Youden indeks maksimum oranları sırasıyla 0,4 ve 0,375'dir. (Tablo 4.4)

Tablo 4.3. Bevacizumab öncesi ve 2. Ay sonunda (4 doz bevacizumab sonrası) CD4, CD8 ve CD+CD25+FoxP3+ Treg hücrelerin oranları (medyan; dağılım)

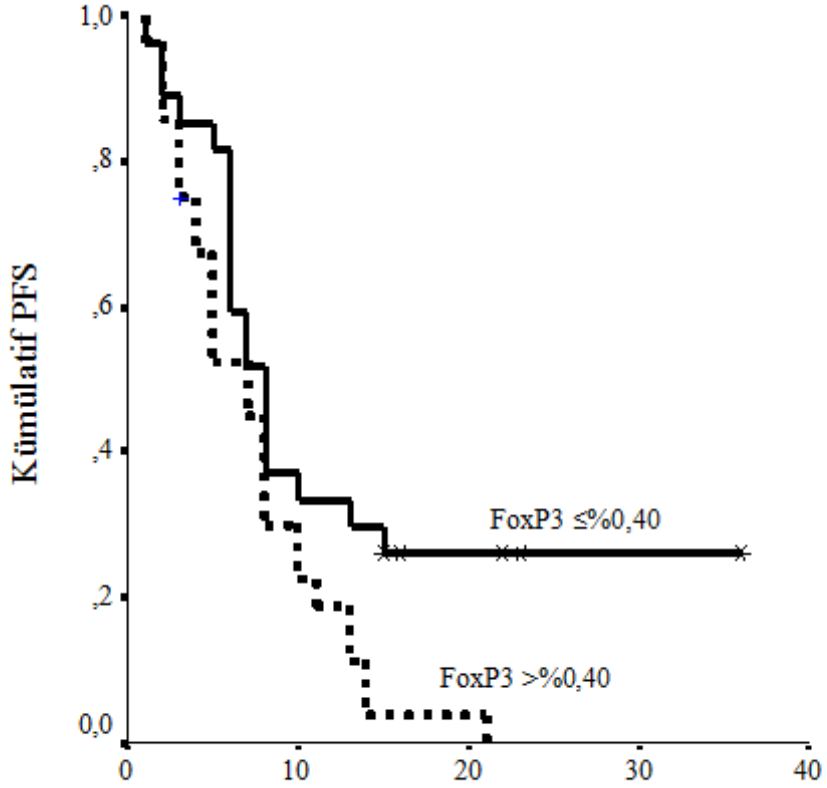
Parametre	**Tedavi öncesi**	**Youden indeks maksimum &**	**2. ay sonu**	**Youden indeks maksimum &**
CD4+/CD8+ hücre	1,63 (0,21-4,42)	2,26	1,81 (0,25 – 9,78)	1,83
CD4+CD25+FoxP3+ (%)	%0,385 (%0,03-4,82)	0,40	%0,32 (%0,02-1,92)	0,375

&Youden indeks: ROC eğri analizinde eürinin koordinatlarında maksimum= sensitivite + spesifite-1 veren değer

PFS ve OS tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 oranları ve Treg düzeylerine göre değerlendirildiğinde (Tablo 4.4); tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 oranları ile PFS ve OS sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Youden indeks cut-off değerlerine göre tedavi öncesi CD4/CD8 oranı ≤2,26 olan hastalarda; PFS 7,0±0,7 ay iken (p=0,2545), OS 16,00 ±2,00 ay (p=0,9137) olarak bulundu. Tedavi öncesi FoxP3 düzeyinin progresyonsuz sağkalım açısından önemli bir değişken olduğu bulundu (p=0,0325), (Şekil 4.3). Tedavi öncesi ve sonrasındaki FoxP3 hücre düzeyinin genel sağkalım açısından önemli bir değişken olmadığı saptanmıştır. (sırasıyla p=0,1058, p=0,6192) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 oranları ve Treg düzeylerine göre progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım sonuçları (Youden indeksine göre cut-off değerlerine göre)

Parametre	Progresyonsuz sağkalım (PFS)	P	Genel Sağkalım (OS)	P
Tedavi öncesi CD4/CD8				
>2,26	7,0±0,7	0,2545	16,00 ±2,00	0,9137
≤2,26	8,0±1,4		16,00±1,5	
Tedavi sonrası				
CD4/CD8	8,0±0,5	0,6313	16,00±6,15	0,5214
>1,83	6,0±0,7		15,00±1,43	
≤1,83				
Tedavi öncesi FoxP3				
≤%0,40	8,0±0,8	0,0325	18,00±2,87	0,1058
>%0,40	7,0±1,3		15,00±0,88	
Tedavi sonrası FoxP3			16,00±1,88	
≤%0,375	6,0±0,7	0,6134	15,00±1,38	0,6192
>%0,375	8,0±1,5			



Şekil 4.3. FoxP3 düzeylerine göre progresyonsuz sağkalım (PFS) eğrileri

4.5. VEGF düzeylerine göre sağkalım analizleri

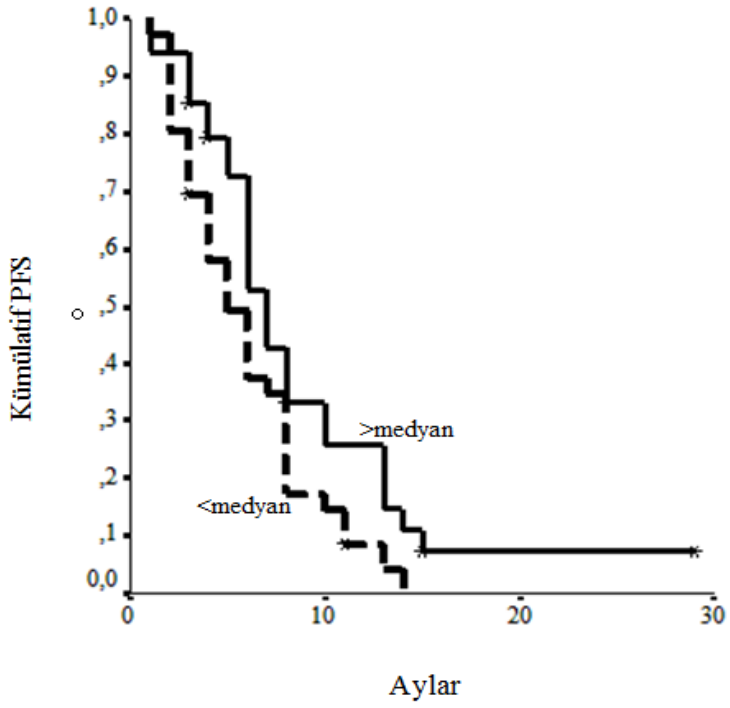
Çalışmamızda VEGF düzeyi medyan düzey 8,2 pg/ml olarak bulunmuşur (Tablo 4.6). VEGF düzeyi düşük olanlarda PFS 5,00 ± 0,83 ay iken yüksek olanlarda 7,00 ± 0,60 ay bulundu (Şekil 4.4) ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,0329). VEGF düzeyi düşük olanlarda OS 15,00 ± 1,61 ay iken yüksek olanlarda 16,00 ± 2,58 ay bulundu; ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,8830) (Tablo 4.7).

Tablo 4.5. Hastaların VEGF düzeyleri (medyan, dağılım)

Parametre	Medyan Düzey	Dağılım
VEGF	8,2 pg/ml	0-619,16

Tablo 4.6. VEGF düzeyleri ile sağkalım ilişkileri

Parametre	Düşük VEGF	Yüksek VEGF	P
PFS	5,00 ± 0,83	7,00 ± 0,60	0,0329
OS	15,00 ± 1,61	16,00 ± 2,58	0,8830



Şekil 4.4. Hastaların serum VEGF medyan düzeyine göre progresyonsuz sağkalım (PFS) eğrileri

4.6. Bevacizumaba karşı antikor gelişimine göre sağkalım analizleri

Hastaların birinci bevacizumab sonrası ve sekizinci uygulama öncesi alınan kan örneklerinden anti-bevacizumab antikor düzeyleri de ELISA ile tayin edildi. İlk bevacizumab uygulamasından sonra hiç bir hastada antikor saptanmazken tedavinin yaklaşık 3. ayından sonra hastaların yaklaşık %10'unda ilaca karşı antikor saptandı. Antikor gelişimi ile sağ kalımlar arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Anti-Bevacizumab antikoru pozitif olanlarda medyan PFS 7,00 ± 0,82 ay iken negatif olanlarda 7,00 ± 0,69 ay idi ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,5933). Anti-Bevacizumab antikoru pozitif olan hastalarda OS 17,00 ± 1,53 ay iken negatif olanlarda 16,00 ± 3,14 ay idi (Tablo 4.8) ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,915).

Tablo 4.7. Anti-Bevacizumab antikor gelişimine göre sağ kalım sonuçları

Parametre	Medyan PFS (ay)	Medyan OS (ay)
Anti-Bevacizumab antikoru pozitif	7,00 ± 0,82	17,00 ± 1,53
Anti-Bevacizumab antikoru negatif	7,00 ± 0,69	16,00 ± 3,14
P	0,5933	0,915

5. TARTIŞMA

KRK tanısı alan hastaların yaklaşık %50-60'ında metastaz gelişir ve bu hastaların %80-90'ı rezeke edilemeyen KC metastazına sahiptir. Son yıllardaki gelişmelerle 5 FU tedavisine eklenen yeni nesil kemoterapotikler (oxaliplatin ve irinotekan) ile medyan sağ kalım 10 aydan 14-16 aya çıkarken, hedefe yönelik tedavilerin eklenmesi ile de (bevacizumab, cetuximab, panitumumab) 24 ile 30 aya kadar çıkmıştır. Hedefe yönelik tedavilerden birisi olan Bevacizumab VEGF'ye karşı geliştirilmiş olan IgG1 yapısında monoklonal bir antikor olup VEGF sinyal yolağını hedefleyen aynı zamanda anti-anjiyojenik ilaçlar olarak da adlandırılan grubun en önemli temsilcisidir.

Bevacizumabın metastatik KRK tanılı hastalarda standart KT rejimlerine eklenmesi ile sağkalım avantajı sağladığı gösterilmiştir. Bevacizumabın etkinliği beraberinde verilen kemoterapotik rejime bağlı olabilir. Bevacizumabın kemoterapiye eklenmesinin hem PFS hem OS'i uzattığı gösterilmiştir.

Metastatik kolorektal kanserinde bevacizumab eklenmiş rejimlerin kullanıldığı çalışmalarda; FL/LV+ bevacizumab alan grupta PFS 9 ay, OS 21,5 ay (165); IFL+bevacizumab alan grupta PFS 10,6 ay, OS 20,3 ay (166); Kapesitabin+bevacizumab alan grupta PFS 9,1 ay, OS 20,7 ay (167); XELOX+ bevacizumab alan grupta PFS 9,4 ay, OS 21,3 ay (168); FOLFIRI+ bevacizumab veya FOLFOX+ bevacizumab alanlar ile yapılan çalışmada bevacizumab alan alan hastalarda PFS 9,6 ay, OS 20,8 ay olarak bulunmuştur (169).

Genellikle birinci basamakta FOLFIRI veya FOLFOX rejimlerine bevacizumab eklenmesi ile elde edilen medyan sağkalım süreleri 20-22 aya arasında değişirken ikinci basamakta bevacizumab alan gruplar ile yapılan çalışmalarda bu süre 15-18 arasında bulunmuştur (169, 170)

Çalışmamızda ise bevacizumab başlangıcından itibaren medyan PFS 6,00±0,66 ay ve OS 15±0,84 ay olarak bulunmuştur (Tablo 4.2) ve literatürde 2. basamak çalışmalar ile uyumlu saptanmıştır.

Tümör hacmi belirli bir seviyeye geldikten sonra büyüme ve metastaz anjiyogenez bağımlı olduğu ve VEGF'nin bu süreçte önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (171-173). Kolon, rekrum, meme, akciğer, beyin ve over kanserlerinde yapılan araştırmalarda VEGF düzeyinin arttığı, endotel hücre çoğalması ve göçünde önemli olduğu gösterilmiştir (174).

VEGF inhibitörü kullanımıyla serum VEGF düzeyleri arasındaki ilişki birçok çalışmada incelenmiş bunlardan bir kısmında tedavi öncesi serum VEGF düzeyleriyle yanıt arasındaki ilişkiye bir kısmında da ilaca bağlı VEGF düzeylerindeki artış veya azalış arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Metastatik kolorektal kanserli hastalarda bevacizumab ile yapılan bir çalışmada primer tümördeki VEGF ekspresyonunun tedavi ilişkili sağkalım ile ilişkisi gösterilememiştir (175). Metastatik over kanserli ve pankreas kanserli hastalar ile yapılan iki ayrı faz II klinik çalışmada bevacizumab kullanımı ile serum VEGF düzeylerinde artış saptanmış ancak bu değerlerin hastalıksız sağ kalım ve genel sağ kalımla olan ilişkisi istatiksel olarak anlamlı olarak bulunmamıştır (176, 177). İleri evre küçük hücre dışı akciğer kanserli hastalarda yapılan bir araştırmada tedavi öncesi yüksek serum VEGF düzeyinin artmış genel sağ kalımla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Tüm bu sonuçlar VEGF düzeylerindeki dinamik değişimin prediktif değerinin olabileceğini akla getirmektedir. Çalışmalardaki hasta sayısının az olması serum VEGF düzeylerindeki değişimin prediktif bir değer olarak kullanılabilmesi amacıyla randomize kontrollü çalışmalara ihtiyacı arttırmıştır (178).

Çalışmamızdaki 83 hastanın tedavi öncesi VEGF seviyesine göre, yüksek VEGF düzeyine sahip olanların progresyonsuz sağkalım avantajı sağladığı gösterildi. Fakat VEGF seviyesinin genel sağkalım ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 4.7).

Metastatik KRK hastalarında birinci basamak tedavide bevacizumabın eklenmesinin sağkalım avantajı %30 civarındadır. Bevacizumaba bağlı hipertansiyon, kanama, intestinal perforasyon gibi ciddi toksisite riski bulunmaktadır. Kişiye yönelik tedavilerde prognostik ve prediktif belirteçler güncel tıpta giderek önem kazanmakta ve uygulanmaktadır. Bu bağlamda uygulanacak bir tedavinin hangi hasta grubuna

verileceği ve tedavi esnasında hangi yanıtla değerlendirileceğinin bilinmesi hastaların optimal süre ve dozda tedavi edilmesine yol açmakta ve gereksiz toksisiteye maruz kalmalarını önlemektedir. Toksisite riski dışında bevacizumab eklemek ile tedavi maliyeti önemli ölçüde artmaktadır. Bevacizumabdan fayda görebilecek hasta grubunun bilinmesi maliyet-etkinlik açısından da fayda sağlayacaktır.

Klinik uygulamalarda bevacizumab preklinik çalışmaların öngördüğünden farklı olarak sadece kemoterapi ile kombine verildiğinde sağkalım avantajı sağlar. Ayrıca, VEGF-hedefli tedavinin klinik yararı, tümör tipi, evre ve tedavi öyküsüne bağlı olarak değişebilir. Ancak en büyük zorluk hastaların önemli bir kısmında anti-anjiyojenik tedaviye karşı direnç gelişmesidir. Başlangıçta tedavi yanıtı olan hastalarda zamanla ilaca yanıtsızlık nedeni merak edilen konulardan biridir. Bevacizumab tedavisi sonrası ilaç yanıtı olmayan veya ilaç direnci gelişmiş olan hastalarda ilaca karşı antikor varlığının gelişip gelişmediği bilinmemektedir. Literatürde bu konuya yönelik mevcut veri yoktur. Çalışmamızda hastaların birinci bevacizumab sonrası ve sekizinci uygulama öncesi alınan kan örneklerinden anti-bevacizumab antikor düzeyleri de ELISA ile tayin edildi. İlk bevacizumab uygulamasından sonra hiç bir hastada antikor saptanmazken tedavinin yaklaşık 3. ayından sonra hastaların yaklaşık %10'unda ilaca karşı antikor saptandı. Antikor gelişimi ile sağ kalımlar arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 4.8).

Bevacizumab anti-VEGF etki gösteren monoklonal bir antikordur. VEGF matür dentritik hücrelerin antijen sunma fonksiyonunu bozar. VEGF-A nın immün süpresyon etkisi doz bağımlı şekilde dentritik hücrelerin allojenik T hücre stimülasyon yetersizliği ortaya konulmuştur. Bu etkinin VEGR2 aracılığıyla olduğu gösterilmiştir. Bu etkiye ilave olarak VEGF-A T hücre gelişimini inhibe eder ve tümör nedenli immün süpresyona katkıda bulunur. Ayrıca, VEGF-A T hücrelerinin sitotoksik aktivitesini azaltır. VEGF-A T hücrelerinin harekete geçirilmesini direkt olarak artırır. CD3+ T hücre altgrupları üzerinde VEGFR1 ekspresyonuna katkıda bulunur. Bevacizumabın VEGF blokajı ile lenfositin hareketini inhibe eder ve immün aracılı vasküler remodelingi iyileştirir. Ayrıca, VEGFR2 FoxP3 + T-reg hücreler tarafından selektif olarak eksprese edilir. Bu nedenle, VEGFR2, tümör mikroçevreden T-reg hücrelerin eliminasyonu için bir hedef olabilir. Gelişmiş anti-tümör koruma tümörü infiltre eden

aktive CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin artan sayısı ve tümörde bulunan supresif regülatuar T (T-regs) hücrelerinin sayısındaki azalma ile ilişkilidir.

Kemoterapiye bevacizumab eklenmesinin periferik T hücre alt grupları üzerindeki etkilerini incelemek ve bu alt kümeler ile tedavi yanıtı arasında herhangi bir ilişki olup olmadığını belirlemek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Metastatik melanom tanılı hastaların yer aldığı bir kohort çalışmasında bevacizumabın kemoterapi ile kombine edilmesinin immünmodülatuar etkiyi arttırdığı gösterilmiştir. Bevacizumab alan hastalarda CD8+ T lenfositlerde anlamlı bir artış olduğu fakat TH1/TH2 hücre oranının etkilenmediği gösterilmiştir (179).

Bevacizumabın metastatik kolorektal kanserdeki etkinliği sadece bilinen antianjiyogenetik özelliği ile değil aynı zamanda bağışıklık sistemi üzerindeki etkisi ile de ilgili olabilir. Metastatik KRK tanılı bevacizumab alan hastaların dahil edildiği bir çalışmada yardımcı T(CD4) lenfositlerin ve sitotoksik T(CD8) lenfositlerin sayıca arttığı gösterilmiştir (180). Metastatik KRK ilişkili bir başka çalışmada kemoterapiye bevacizumab eklenmesi ile CD4+ T lenfosit/Treg hücre oranının anlamlı derecede arttığı ve Treg supresyon aktivitesini azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada Treg seviyesi azalan hasta grubunda PFS ve OS'nin artmış olduğu saptanmıştır (181).

Çalışmamızda tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 T lenfosit oranları ve Treg düzeylerine göre PFS ve OS değerlendirildi (Tablo 4.5); tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 oranları ile PFS ve OS sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Tedavi öncesi FoxP3 (Treg) düzeyinin progresyonsuz sağkalım açısından önemli bir değişken olduğu, genel sağkalım açısından önemli bir değişken olmadığı saptandı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Metastatik kolorektal kanserlerde bevacizumabın birinci basamak tedavide kemoterapi ile kombine kullanılması kabul gören bir tedavi seçeneğidir. Fakat bevacizumabın tedaviye katkısı sınırlıdır. Bevacizumabın eklenmesi ile elde edilen sağkalım avantajı % 30 civarındadır ve bevacizumab etkinliğini ön görebilecek bir belirteç bulunmamaktadır. VEGF inhibitörü kullanımıyla serum VEGF düzeyleri arasındaki ilişki birçok çalışmada incelenmiştir. VEGF düzeylerindeki dinamik değişimin prediktif değerinin olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmakla beraber, çalışmalardaki hasta sayısının az olması randomize kontrollü çalışmalara ihtiyacı arttırmıştır. Çalışmamızda yüksek VEGF düzeyine sahip olmanın bevacizumab tedavisinde progresyonsuz sağkalım avantajı sağladığı gösterilmiştir.

Bevacizumab tedavisi alan hastalardaki ilaca yanıt düzeyleri değişkendir. Kimi hastalar bevacizumaba iyi yanıt verirken kimi hastalarda yanıtsızlık vardır. Tedavi aşamasındaki en büyük zorluk hastaların önemli bir kısmında tedaviye karşı direnç gelişmesidir. Bevacizumab yanıtı olmayan veya ilaç direnci gelişmiş olan hastalarda anti-bevacizumab antikorun varlığı bilinmemektedir. Literatürde bu konuya yönelik çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda hastaların % 10'unda bevacizumaba karşı antikor saptanırken, antikor varlığı ile sağkalım ilişkisi bulunmamıştır.

Kanser oluşumu, progresyonu, metastazı, kanserin immün sistem üzerindeki etkisi ve kemoterapiye direnç mekanizmaları gibi birçok alanda klinik ve preklinik araştırma yapılmakta, kanserin moleküler ve hücresel biyolojisi her geçen gün daha iyi anlaşılmaktadır. Tedaviye bevacizumab eklemenin periferik T hücre alt grupları üzerindeki etkisini incelemek ve bu alt kümeler ile tedavi yanıtı arasında herhangi bir ilişki olup olmadığını belirlemek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Çalışmamızda tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 T lenfosit oranları ve Treg düzeylerine göre sağkalım değerlendirilmiştir. CD4/CD8 lenfosit oranları ile sağkalım avantajı bulunmazken, tedavi öncesi FoxP3 (Treg) düzeyinin progresyonsuz sağkalım açısından önemli bir değişken olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak hedefe yönelik ve kişiye özgü tedavilerin günümüzde giderek daha yaygın kullanıldığı güncel onkolojide hastalığın seyri, tedaviye yanıt ve toksisitenin değerlendirilmesi ve surveyin artışı giderek önem kazanmaktadır. Bu bağlamda etkin prognostik ve prediktif faktörlerin belirlenmesi ve rutin kullanıma girmesi önemli hale gelmiştir. Kanserdeki sağkalımın artması antikanser tedavilerin giderek daha uzun süreli kullanılmasını gerekli kılmıştır. Bu durum günümüzde ilaç ilişkili akut ve kronik yan etkilerin ek komorbidite ve mortalite oluşturması nedeniyle yakın takibi zorunlu hale getirmiştir. Çalışmamız tüm bu durumların değerlendirilmesi yönünden pratik ve hipotetik olarak literatüre katkı sağlayabilecek bir çalışmadır. Daha önceki benzer çalışmalara kıyasla çalışmamızdaki hasta popülasyonu daha fazladır. Fakat bu konuda daha etkin sonuçlara ulaşabilmek ve klinik pratikte kullanılabilir somut veriler elde edebilmek için çok daha fazla hasta sayısı ile yapılacak randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Rutin Tedavi Olarak Bevacizumab Kullanan Metastatik Kolorektal Kanserli Hastalarda Tedavi Etkinliğinin Belirlenmesinde Biyobelirteçlerin Rolü

Amaç: Uzmanlık tezi olarak seçilen bu çalışmada antianjiyogenik tedavi alan ileri evre KRK hastalarında VEGF düzeyi ve anti-bevacizumab antikor ile sağkalım ilişkisinin belirlenmesi, ayrıca tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 T lenfosit oranları ve Treg düzeylerinin sağkalıma etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Bu çalışma çok merkezli prospektif bir çalışmadır. A.Ü.T.F. Tıbbi Onkoloji B.D, Ankara Onkoloji Hastanesi, ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalında 05.09.2014 - 02.08.2017 tarihleri arasında bevacizumab tedavisi başlanmış metastatik kolorektal kanser tanılı 84 hasta dahil edilmiştir. Hastalardan tedavi öncesi ve sonrası 2. ve 4. ay kan örnekleri alınarak akım sitometri ile CD4, CD8 ve CD+CD25+FoxP3+ Treg hücrelerinin oranları tayin edildi, hücre oranlarına göre progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım sonuçları değerlendirildi. Çalışmamızda VEGF düzeyi ile ve Anti-Bevacizumab antikor gelişimine göre sağ kalım analizleri değerlendirildi.

Bulgular: Tedavi öncesi ve sonrası CD4+/CD8+ T hücre oranı ile PFS ve OS arasında anlamlı ilişki bulunmadı. Tedavi öncesi CD4+/CD8+ T hücre oranı >2,26 ve ≤2,26 olanlar karşılaştırıldığında PFS (sırasıyla 7,0±0,7 ay ve 8,0±1,4 ay ; p=0,2545) ve OS (sırasıyla 16,00 ±2,00 ay ve 16,00±1,5 ay ; p=0,9137) açısından anlamlı farklılık izlenmedi. Tedavi sonrası CD4+/CD8+ T hücre oranı >1,83 ve ≤1,83 olanlar karşılaştırıldığında PFS (sırasıyla 8,0±0,5 ay ve 6,0±0,7 ay p=0,6313) ve OS (sırasıyla 16,00±6,15 ay ve 15,00±1,43 ay; p=0,5214) açısından anlamlı farklılık izlenmedi. Tedavi öncesi FoxP3 Treg düzeyinin progresyonsuz sağkalım açısından önemli bir değişken olduğu bulundu. Tedavi öncesi FoxP3 Treg hücre düzeyleri ≤%0,40 ve >%0,40 olanlar karşılaştırıldığında PFS(sırasıyla 8,0±0,8 ay ve 7,0±1,3 ay; p=0,0325) istatistiksel açıdan anlamlı idi. Hastaların VEGF düzeyleri düşük ve yüksek olanlarda sağkalım ilişkisi değerlendirildiğinde,VEGF yüksek olan grupta PFS (sırasıyla 5,00 ± 0,83 ay ve 7,00 ± 0,60 ay ; p=0,0329) anlamlı şekilde daha uzun iken OS (sırasıyla 15,00 ± 1,61 ay ve 16,00 ± 2,58 ay; p=0,8830) açısından anlamlı fark görülmedi. Anti-Bevacizumab antikor pozitif ve negatif olan hastaların sağkalım analizinde PFS (sırasıyla 7,00±0,82 ay ve 7,00±0,69; p=0,5933) ve OS (sırasıyla 17,00 ± 1,53 ve 16,00 ± 3,14 ay; p=0,915) anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Sonuç: Çalışmamızda tedavi öncesi CD+CD25+FoxP3+ Treg hücre düzeyi düşük olanlarda ve bevacizumab etkinliği arasında bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca VEGF düzeyi yüksek olan grupta bevacizumabın progresyınsuz sağkalım avantajı sağladığı gösterilmiştir. Çalışmamız özellikle tedavi öncesi CD+CD25+FoxP3+ Treg hücre düzeyinin bevacizumab tedavisinden yarar görebilecek hastaların seçiminde kullanılabileceğini öngörmekle beraber bu konuda kesin bir sonuca ulaşabilmek için randomize klinik çalışmalara ihtiaç vardır.

Anahtar kelimeler: CD4+/CD8+ T hücre, CD+CD25+FoxP3+ Treg hücre, kolorektal kanser, bevacizumab, VEGF, anti-bevacizumab antikor

SUMMARY

Role of biomarkers in the treatment efficacy of patients with metastatic colorectal cancer using bevacizumab as a routine treatment

Objective: The aim of this study was to determine the survival relationship of VEGF and anti-bevacizumab antibodies in advanced CRC patients who received antiangiogenic therapy and to determine the survival rate of CD4 / CD8 T lymphocyte and Treg levels before and after treatment.

Material and Method: This study is a multicenter prospective study. W e included eighty four patients with metastatic colorectal cancer who administered bevacizumab therapy at the Department of Medical Oncology in Ankara University Faculty of Medicine, Necmettin Erbakan University Medical Faculty Oncology Department and Ankara Oncology Hospital between 05.09.2014 and 02.08.2017. Blood samples were taken from the patients before and after treatment at 2 and 4 months, and the ratios of CD4+, CD8+ and CD4+CD25+FoxP3+ Treg cells were determined by flow cytometry, progression-free survival and overall survival outcomes were evaluated according to cell ratios. In our study, survival analysis was assessed by VEGF level and Anti-Bevacizumab antibody development.

Results: There was no significant correlation between CD4+/CD8+ T cell ratio, PFS, OS before and after treatment. When the pre-treatment CD4+/CD8+T cell ratio> 2,26 and ≤2,26 were compared, there was no statistically significant difference between PFS (7.0±0.7 months and 8.0±1.4 months, respectively, p=0.2545) and OS (16.00±2.00 months and 16.00±1.5 months, respectively, , p=0.9137). When the CD4 + / CD8 + T cell ratio was> 1.83 and ≤1,83 after treatment, there was no statistically significant difference between median PFS (8,0±0,5 months and 6,0±0,7 months, respectively, p=0,6313) and OS (16.00±6.15 months and 15.00±1.43 months respectively, p=0.5214). Pre-treatment FoxP3 Treg levels were found to be an important variable in terms of median PFS. PFS was statistically significant when compared with pretreatment FoxP3 Treg cell levels ≤ 0.40% and> 0.40% (8.0±0.8 months and 7.0±1.3 months, p=0.0325, respectively). When VEGF levels of the patients were low and high, survival was evaluated, while median PFS (5,00±0,83 months and 7,00±0,60 months, p=0,0329, respectively) was significantly longer in the group with high VEGF, no significant difference was found in terms of median OS (p=0,8830).

Conclusion: We found a correlation between pre-treatment CD4+CD25+FoxP3+ Treg cell levels and bevacizumab activity in our study. It has also been shown that bevacizumab provides a progressive survival advantage in the group with high VEGF levels. Our study specifically predicts that pre-treatment CD4+CD25+FoxP3+ Treg cell levels may be used in the selection of patients who may benefit from treatment with bevacizumab, but there is a need for randomized clinical trials to reach a definite conclusion.

Key words: CD4 + / CD8 + T cell, CD4+CD25+FoxP3+ Treg cell, colorectal cancer, bevacizumab, VEGF, anti-bevacizumab antibody

KAYNAKLAR

1. Kasi PM, Hubbard JM, Grothey A. Selection of biologics for patients with metastatic colorectal cancer: the role of predictive markers. Expert Rev Gastroenterol Hepatol. 2015 Mar;9(3):273-6.
2. Manzoni M, Rovati B, Ronzoni M, et al. Immunological effects of bevacizumab-based treatment in metastatic colorectal cancer. Oncology. 2010;79(3-4):187-96
3. Roselli M, Formica V, Cereda V, et al. The association of clinical outcome and peripheral T-cell subsets in metastatic colorectal cancer patients receiving first-line FOLFIRI plus bevacizumab therapy. Oncoimmunology. 2016 May 19;5(7):e1188243
4. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. CA Cancer J Clin. 2018 Jan;68(1):7-30.
5. Jemal A, Ward EM, Johnson CJ, et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2014, Featuring Survival. J Natl Cancer Inst. 2017 Sep 1;109(9).
6. Türkiye Kanser İstatistikleri, http://kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/2014-RAPOR.
7. Center MM, Jemal A, Smith RA, Ward E. Worldwide variations in colorectal cancer. CA Cancer J Clin. 2009 Nov-Dec;59(6):366-78.
8. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016.CA Cancer J Clin. 2016 Jan-Feb;66(1):7-30
9. Dozois EJ, Boardman LA, Suwanthanma W, et al. Young-onset colorectal cancer in patients with no known genetic predisposition: can we increase early recognition and improve outcome? Medicine (Baltimore). 2008 Sep;87(5):259-63.
10. Eddy DM. Screening for Colorectal Cancer. Ann Intern Med. 1990;113:373–384.
11. Davis DM, Marcet JE, Frattini JC, Prather AD, Mateka JJ, Nfonsam VN. Is it time to lower the recommended screening age for colorectal cancer? J Am Coll Surg. 2011 Sep;213(3):352-61.
12. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER*Stat database: Incidence-SEER 9 Regs Research data with Delay-adjustment, Malignant only, Nov 2015 Sub (1975-2013) ,Katrina/Rita Population Adjustment.-Linked To County Attributes-Total US, 1969-2014 Counties. Bethesda, MD: National Cancer Institute, Division of Cancer Control and Population Sciences, Surveillance Research Program, Surveillance Systems Branch; 2016. (https://seer.cancer.gov/data/seerstat/nov2015/)
13. Tawadros PS, Paquette IM, Hanly AM, Mellgren AF, Rothenberger DA, Madoff RD. Adenocarcinoma of the rectum in patients under age 40 is increasing: impact of signet-ring cell histology. Dis Colon Rectum. 2015 May;58(5):474-8.
14. Siegel RL, Fedewa SA, Anderson WF, Miller KD, Ma J, Rosenberg PS, Jemal A.
Colorectal Cancer Incidence Patterns in the United States, 1974-2013. J Natl Cancer Inst. 2017 Aug 1;109(8).
15. Ahnen DJ, Wade SW, Jones WF, et al. The increasing incidence of young-onset colorectal cancer: a call to action. Mayo Clin Proc. 2014 Feb;89(2):216-24.
16. Mork ME, You YN, Ying J, Bannon SA, Lynch PM, Rodriguez-Bigas MA, Vilar E. High Prevalence of Hereditary Cancer Syndromes in Adolescents and Young Adults With Colorectal Cancer. J Clin Oncol. 2015 Nov 1;33(31):3544-9.
17. Pearlman R, Frankel WL, Swanson B, et al. Prevalence and Spectrum of Germline Cancer Susceptibility Gene Mutations Among Patients With Early-Onset Colorectal Cancer. JAMA oncology. 2017;3(4):464-471.

18. Gupta S, Bhattacharya D, Acharya AN, Majumdar S, Ranjan P, Das S. Colorectal carcinoma in young adults: a retrospective study on Indian patients: 2000-2008. Colorectal Dis. 2010 Oct;12(10 Online):e182-9.
19. Mamazza J, Gordon PH. The changing distribution of large intestinal cancer. Dis Colon Rectum. 1982 Sep;25(6):558-62.
20. Vukasin AP, Ballantyne GH, Flannery JT, Lerner E, Modlin IM. Increasing incidence of cecal and sigmoid carcinoma. Data from the Connecticut Tumor Registry. Cancer. 1990 Dec 1;66(11):2442-9.
21. Lee BY, Sonnenberg A. Time trends of mortality from colorectal cancer in the United States: a birth-cohort analysis. JAMA Intern Med. 2013 Jun 24;173(12):1148-50.
22. Burt RW, DiSario JA, Cannon-Albright L. Genetics of colon cancer: impact of inheritance on colon cancer risk. Annu Rev Med. 1995;46:371-9.
23. Lynch HT, Smyrk TC, Watson P, Lanspa SJ, et al. Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an updated review. Gastroenterology. 1993 May;104(5):1535-49.
24. Ponz de Leon M, Sassatelli R, Benatti P, Roncucci L. Identification of hereditary nonpolyposis colorectal cancer in the general population. The 6-year experience of a population-based registry. Cancer. 1993 Jun 1;71(11):3493-501.
25. Galiatsatos P, Foulkes WD. Familial adenomatous polyposis. Am J Gastroenterol. 2006 Feb;101(2):385-98.
26. Burt RW, Leppert MF, Slattery ML, Samowitz WS, Spirio LN, Kerber RA, Kuwada SK, Neklason DW, Disario JA, Lyon E, Hughes JP, Chey WY, White RL. Genetic testing and phenotype in a large kindred with attenuated familial adenomatous polyposis. Gastroenterology. 2004 Aug;127(2):444-51.
27. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Clendenning M, Sotamaa K, Prior T, Westman JA, Panescu J, Fix D, Lockman J, LaJeunesse J, Comeras I, de la Chapelle A. Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. J Clin Oncol. 2008 Dec 10;26(35):5783-8.
28. Bonadona V, Bonaïti B, Olschwang S, Grandjouan S, Huiart L, et al. Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. JAMA. 2011 Jun 8;305(22):2304-10.
29. Hendriks YM, de Jong AE, Morreau H, et al. Diagnostic approach and management of Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma): a guide for clinicians. CA Cancer J Clin. 2006 Jul-Aug;56(4):213-25.
30. Møller P, Seppälä T, Bernstein I, et al. Cancer incidence and survival in Lynch syndrome patients receiving colonoscopic and gynaecological surveillance: first report from the prospective Lynch syndrome database. Gut. 2017;66(3):464-472.
31. Tuohy TM, Rowe KG, Mineau GP, Pimentel R, Burt RW, Samadder NJ. Risk of colorectal cancer and adenomas in the families of patients with adenomas: a population-based study in Utah. Cancer. 2014 Jan 1;120(1):35-42.
32. Rutter MD. Surveillance programmes for neoplasia in colitis. J Gastroenterol. 2011 Jan;46 Suppl 1:1-5.
33. Nottage K, McFarlane J, Krasin MJ, Li C, Srivastava D, Robison LL, Hudson MM. Secondary colorectal carcinoma after childhood cancer. J Clin Oncol. 2012 Jul 10;30(20):2552-8.
34. Henderson TO, Oeffinger KC, Whitton J, et al. Secondary gastrointestinal cancer in childhood cancer survivors: a cohort study. Ann Intern Med. 2012 Jun 5;156(11):757-66, W-260.
35. Baxter NN, Tepper JE, Durham SB, Rothenberger DA, Virnig BA. Increased risk of rectal cancer after prostate radiation: a population-based study. Gastroenterology. 2005 Apr;128(4):819-24.

36. Desautels D, Czaykowski P, Nugent Z, Demers AA, Mahmud SM, Singh H. Risk of colorectal cancer after the diagnosis of prostate cancer: A population-based study. Cancer. 2016 Apr 15;122(8):1254-60.
37. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell. 1990 Jun 1;61(5):759-67.
38. White RL. Tumor suppressing pathways. Cell. 1998 Mar 6;92(5):591-2.
39. Goss KH, Groden J. Biology of the adenomatous polyposis coli tumor suppressor. J Clin Oncol. 2000 May;18(9):1967-79.
40. Korinek V, Barker N, Morin PJ, et al. Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tcf complex in APC-/- colon carcinoma. Science. 1997 Mar 21;275(5307):1784-7.
41. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. Gastroenterology. 2008 Oct;135(4):1079-99.
42. Herman JG, Umar A, Polyak K, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 Jun 9;95(12):6870-5.
43. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. Nat Genet. 2006 Jul;38(7):787-93. Epub 2006 Jun 25.
44. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Jul 20;96(15):8681-6.
45. Shen L, Toyota M, Kondo Y, et al. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Nov 20;104(47):18654-9.
46. Nosho K, Irahara N, Shima K, et al. Comprehensive biostatistical analysis of CpG island methylator phenotype in colorectal cancer using a large population-based sample. PLoS One. 2008;3(11):e3698.
47. Samowitz WS, Albertsen H, Sweeney C, Herrick J, Caan BJ, Anderson KE, Wolff RK, Slattery ML. Association of smoking, CpG island methylator phenotype, and V600E BRAF mutations in colon cancer. J Natl Cancer Inst. 2006 Dec 6;98(23):1731-8.
48. French AJ, Sargent DJ, Burgart LJ, et al. Prognostic significance of defective mismatch repair and BRAF V600E in patients with colon cancer. Clin Cancer Res. 2008 Jun 1;14(11):3408-15.
49. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Kawasaki T, Meyerhardt JA, Loda M, Giovannucci EL, Fuchs CS. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. Gut. 2009 Jan;58(1):90-6.
50. Samani AA, Yakar S, LeRoith D, Brodt P. The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. Endocr Rev. 2007 Feb;28(1):20-47.
51. Vincent KA, Shyu KG, Luo Y, et al. Angiogenesis is induced in a rabbit model of hindlimb ischemia by naked DNA encoding an HIF-1alpha/VP16 hybrid transcription factor. Circulation. 2000 Oct 31;102(18):2255-61.
52. Mühlhauser J, Pili R, Merrill MJ, Maeda H, Passaniti A, Crystal RG, Capogrossi MC. In vivo angiogenesis induced by recombinant adenovirus vectors coding either for secreted or nonsecreted forms of acidic fibroblast growth factor. Hum Gene Ther. 1995 Nov;6(11):1457-65.
53. Mühlhauser J, Merrill MJ, Pili R, et al. VEGF165 expressed by a replication-deficient recombinant adenovirus vector induces angiogenesis in vivo. Circ Res. 1995 Dec;77(6):1077-86.

54. Schneider BP, Radovich M, Miller KD. The role of vascular endothelial growth factor genetic variability in cancer. Clin Cancer Res. 2009 Sep 1;15(17):5297-302.
55. Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, Meropol NJ, Novotny WF, Lieberman G, Griffing S, Bergsland E. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 2003 Jan 1;21(1):60-5.
56. Chung AS, Ferrara N. Developmental and pathological angiogenesis. Annu Rev Cell Dev Biol. 2011;27:563-84.
57. Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. Nature. 2011 May 19;473(7347):298-307.
58. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. Nat Med. 2003 Jun;9(6):677-84
59. Kuwai T, Kitadai Y, Tanaka S, Onogawa S, Matsutani N, Kaio E, Ito M, Chayama K. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha is associated with tumor vascularization in human colorectal carcinoma. Int J Cancer. 2003 Jun 10;105(2):176-81.
60. Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ. Activation of the HIF pathway in cancer. Curr Opin Genet Dev. 2001 Jun;11(3):293-9.
61. Chung AS, Ferrara N. Developmental and pathological angiogenesis. Annu Rev Cell Dev Biol. 2011;27:563-84.
62. Mancuso MR, Davis R, Norberg SM, O'Brien S, Sennino B, Nakahara T, Yao VJ, Inai T, Brooks P, Freimark B, Shalinsky DR, Hu-Lowe DD, McDonald DM. Rapid vascular regrowth in tumors after reversal of VEGF inhibition. J Clin Invest. 2006 Oct;116(10):2610-21.
63. Willett CG, Boucher Y, di Tomaso E, Duda DG, Munn LL, Tong RT, Chung DC, Sahani DV, Kalva SP, Kozin SV, Mino M, Cohen KS, Scadden DT, Hartford AC, Fischman AJ, Clark JW, Ryan DP, Zhu AX, Blaszkowsky LS, Chen HX, Shellito PC, Lauwers GY, Jain RK. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. Nat Med. 2004 Feb;10(2):145-7.
64. Sessa C, Guibal A, Del Conte G, Rüegg C. Biomarkers of angiogenesis for the development of antiangiogenic therapies in oncology: tools or decorations? Nat Clin Pract Oncol. 2008 Jul;5(7):378-91.
65. Murukesh N, Dive C, Jayson GC. Biomarkers of angiogenesis and their role in the development of VEGF inhibitors. Br J Cancer. 2010 Jan 5;102(1):8-18.
66. Gerger A, LaBonte M, Lenz HJ. Molecular predictors of response to antiangiogenesis therapies. Cancer J. 2011 Mar-Apr;17(2):134-41.
67. Savage PA, Leventhal DS, Malchow S. Shaping the repertoire of tumor-infiltrating effector and regulatory T cells. Immunological reviews. 2014;259(1):245-258.
68. Greenberg PD. Mechanism of Tumor Immunology. In: Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB,1 eds. Medical Immunology. 10th ed. New York, NY: McGraw-Hill, 2001;568-57
69. Gras Navarro A, Björklund AT, Chekenya M. Therapeutic potential and challenges of natural killer cells in treatment of solid tumors. Front Immunol. 2015 Apr 29;6:202.
70. Bailey SR, Nelson MH, Himes RA, Li Z, Mehrotra S, Paulos CM. Th17 cells in cancer: the ultimate identity crisis. Front Immunol. 2014 Jun 17;5:276.
71. Burt RW, Bishop DT, Lynch HT, Rozen P, Winawer SJ. Risk and surveillance of individuals with heritable factors for colorectal cancer. WHO Collaborating Centre for the Prevention of Colorectal Cancer. Bull World Health Organ. 1990;68(5):655-65.
72. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Speizer FE, Willett WC. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. N Engl J Med. 1994 Dec 22;331(25):1669-74.

73. Raj KP, Taylor TH, Wray C, Stamos MJ, Zell JA. Risk of second primary colorectal cancer among colorectal cancer cases: a population-based analysis. J Carcinog. 2011 Mar 17;10:6.
74. Majumdar SR, Fletcher RH, Evans AT. How does colorectal cancer present? Symptoms, duration, and clues to location. Am J Gastroenterol. 1999 Oct;94(10):3039-45.
75. Hamilton W, Round A, Sharp D, Peters TJ. Clinical features of colorectal cancer before diagnosis: a population-based case-control study. Br J Cancer. 2005 Aug 22;93(4):399-405.
76. Speights VO, Johnson MW, Stoltenberg PH, Rappaport ES, Helbert B, Riggs M. Colorectal cancer: current trends in initial clinical manifestations. South Med J. 1991 May;84(5):575-8.
77. Wolmark N, Wieand HS, Rockette HE, Fisher B, Glass A, Lawrence W, Lerner H, Cruz AB, Volk H, Shibata H, et al. The prognostic significance of tumor location and bowel obstruction in Dukes B and C colorectal cancer. Findings from the NSABP clinical trials. Ann Surg. 1983 Dec;198(6):743-52.
78. Griffin MR, Bergstralh EJ, Coffey RJ, Beart RW Jr, Melton LJ 3rd. Predictors of survival after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. Cancer. 1987 Nov 1;60(9):2318-24.
79. Liu Z, Zhang Y, Niu Y, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic and Prognostic Serum Biomarkers of Colorectal Cancer. De Re V, ed. PLoS ONE. 2014;9(8):e103910.
80. Sajid KM, Parveen R, Durr-e-Sabih, Chaouachi K, Naeem A, Mahmood R, Shamim R Carcinoembryonic antigen (CEA) levels in hookah smokers, cigarette smokers and non-smokers. J Pak Med Assoc. 2007 Dec;57(12):595-9.
81. Gershon Y. Locker, Stanley Hamilton, Jules Harris, John M. Jessup, Nancy Kemeny, John S. Macdonald, Mark R. Somerfield, Daniel F. Hayes, and Robert C. Bast Jr. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. Journal of Clinical Oncology 2006 24:33, 5313-27
82. Tsuyoshi Konishi, Yoshifumi Shimada, Meier Hsu, et al. Association of Preoperative and Postoperative Serum Carcinoembryonic Antigen and Colon Cancer Outcome, JAMA Oncol. 2018;4(3):309-315.
83. Duffy MJ. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful? Clin Chem. 2001 Apr;47(4):624-30.
84. Song L, Li Y. SEPT9: A Specific Circulating Biomarker for Colorectal Cancer. Adv Clin Chem. 2015;72:171-204.
85. Tomono A, Itoh T, Yanagita E, Imagawa N, Kakeji Y. Cell Cycle Kinetic Analysis of Colorectal Neoplasms Using a New Automated Immunohistochemistry-Based Cell Cycle Detection Method. Wu. Y, ed. Medicine. 2015;94(4):e501.
86. Weiss JM, Pfau PR, O'Connor ES, et al. Mortality by Stage for Right- Versus Left-Sided Colon Cancer: Analysis of Surveillance, Epidemiology, and End Results–Medicare Data. Journal of Clinical Oncology. 2011;29(33):4401-4409.
87. Loupakis F, Yang D, Yau L, et al. Primary Tumor Location as a Prognostic Factor in Metastatic Colorectal Cancer. JNCI Journal of the National Cancer Institute. 2015;107(3):dju427.
88. Price TJ, Beeke C, Ullah S, Padbury R, Maddern G, et al. Does the primary site of colorectal cancer impact outcomes for patients with metastatic disease? Cancer. 2015 Mar 15;121(6):830-5.
89. Knox, R.D., Luey, N., Sioson, L. et al. Medullary colorectal carcinoma revisited: a clinical and pathological study of 102 cases. Ann Surg Oncol. 2015 Sep;22(9):2988-96.
90. Green JB, Timmcke AE, Mitchell WT, Hicks TC, Gathright JB Jr, Ray JE. Mucinous carcinoma--just another colon cancer? Dis Colon Rectum. 1993 Jan;36(1):49-54.

91. Consorti F, Lorenzotti A, Midiri G, Di Paola M. Prognostic significance of mucinous carcinoma of colon and rectum: a prospective case-control study. J Surg Oncol. 2000 Feb;73(2):70-4.
92. Nitsche U, Zimmermann A, Späth C, et al. Mucinous and Signet-Ring Cell Colorectal Cancers Differ from Classical Adenocarcinomas in Tumor Biology and Prognosis. Annals of Surgery. 2013;258(5):775-783.
93. Lee D-W, Han S-W, Lee HJ, et al. Prognostic implication of mucinous histology in colorectal cancer patients treated with adjuvant FOLFOX chemotherapy. British Journal of Cancer. 2013;108(10):1978-1984.
94. Shin US, Yu CS, Kim JH, et al. Mucinous rectal cancer: effectiveness of preoperative chemoradiotherapy and prognosis. Ann Surg Oncol. 2011 Aug;18(8):2232-9.
95. Psathakis D, Schiedeck TH, Krug F, Oevermann E, Kujath P, Bruch HP. Ordinary colorectal adenocarcinoma vs. primary colorectal signet-ring cell carcinoma: study matched for age, gender, grade, and stage. Dis Colon Rectum. 1999 Dec;42(12):1618-25.
96. Nissan A, Guillem JG, Paty PB, Wong WD, Cohen AM. Signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum: a matched control study. Dis Colon Rectum. 1999 Sep;42(9):1176-80.
97. Frizelle FA, Hobday KS, Batts KP, Nelson H. Adenosquamous and squamous carcinoma of the colon and upper rectum: a clinical and histopathologic study. Dis Colon Rectum. 2001 Mar;44(3):341-6.
98. Landau MS, Kuan SF, Chiosea S, Pai RK. BRAF-mutated microsatellite stable colorectal carcinoma: an aggressive adenocarcinoma with reduced CDX2 and increased cytokeratin 7 immunohistochemical expression. Hum Pathol. 2014 Aug;45(8):1704-12.
99. Moll R, Zimbelmann R, Goldschmidt MD, Keith M, Laufer J, Kasper M, Koch PJ, Franke WW. The human gene encoding cytokeratin 20 and its expression during fetal development and in gastrointestinal carcinomas. Differentiation. 1993 Jun;53(2):75-93.
100. Werling RW, Yaziji H, Bacchi CE, Gown AM. CDX2, a highly sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas. Am J Surg Pathol. 2003 Mar;27(3):303-10.
101. Yoh T, Yamamichi K, Oishi M, Iwaki R, Motohiro T. [A case of effective neoadjuvant chemoradiotherapy with capecitabine for locally advanced sigmoid colon cancer]. Gan To Kagaku Ryoho. 2011 Jun;38(6):1021-4.
102. Cukier M, Smith AJ, Milot L, Chu W, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy and multivisceral resection for primary locally advanced adherent colon cancer: a single institution experience. Eur J Surg Oncol. 2012 Aug;38(8):677-82.
103. FOxTROT Collaborative Group. Feasibility of preoperative chemotherapy for locally advanced, operable colon cancer: the pilot phase of a randomised controlled trial. The Lancet Oncology. 2012;13(11):1152-1160.
104. Al B. Benson III, Deborah Schrag, Mark R, et al. American Society of Clinical Oncology Recommendations on Adjuvant Chemotherapy for Stage II Colon Cancer. Journal of Clinical Oncology 2004 22:16, 3408-19.
105. Saltz LB, Niedzwiecki D, Hollis D, Goldberg RM, Hantel A, Thomas JP, Fields AL, Mayer RJ. Irinotecan fluorouracil plus leucovorin is not superior to fluorouracil plus leucovorin alone as adjuvant treatment for stage III colon cancer: results of CALGB 89803. J Clin Oncol. 2007 Aug 10;25(23):3456-61.
106. Ychou M, Raoul JL, Douillard JY, Gourgou-Bourgade S,et al. A phase III randomised trial of LV5FU2 + irinotecan versus LV5FU2 alone in adjuvant high-risk colon cancer (FNCLCC Accord02/FFCD9802). Ann Oncol. 2009 Apr;20(4):674-80.

107. Allegra CJ, Yothers G, O'Connell MJ, et al. Bevacizumab in Stage II-III Colon Cancer: 5-Year Update of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project C-08 Trial. Journal of Clinical Oncology. 2013;31(3):359-364.
108. Allegra CJ, Yothers G, O'Connell MJ, et al. Initial Safety Report of NSABP C-08: A Randomized Phase III Study of Modified FOLFOX6 With or Without Bevacizumab for the Adjuvant Treatment of Patients With Stage II or III Colon Cancer. Journal of Clinical Oncology. 2009;27(20):3385-3390.
109. Alberts SR, Sargent DJ, Nair S, et al. Effect of Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin With or Without Cetuximab on Survival Among Patients With Resected Stage III Colon Cancer: A Randomized Trial. JAMA : the journal of the American Medical Association. 2012;307(13):1383-1393.
110. Taieb J, Balogoun R, Le Malicot K, et al. Adjuvant FOLFOX +/- cetuximab in full RAS and BRAF wildtype stage III colon cancer patients. Ann Oncol. 2017 Apr 1;28(4):824-830.
111. Weeks JC, Catalano PJ, Cronin A, et al. Patients' Expectations about Effects of Chemotherapy for Advanced Cancer. The New England journal of medicine. 2012;367(17):1616-1625.
112. Guo Y, Shi M, Shen X, Yang C, Yang L, Zhang J. Capecitabine plus irinotecan versus 5-FU/leucovorin plus irinotecan in the treatment of colorectal cancer: a meta-analysis. Clin Colorectal Cancer. 2014 Jun;13(2):110-8.
113. Souglakos J, Ziras N, Kakolyris S, et al. Randomised phase-II trial of CAPIRI (capecitabine, irinotecan) plus bevacizumab vs FOLFIRI (folinic acid, 5-fluorouracil, irinotecan) plus bevacizumab as first-line treatment of patients with unresectable/metastatic colorectal cancer (mCRC). British Journal of Cancer. 2012;106(3):453-459.
114. Tournigand C, André T, Achille E, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. J Clin Oncol. 2004 Jan 15;22(2):229-37.
115. Hochster HS, Hart LL, Ramanathan RK, Childs BH, et al. Safety and efficacy of oxaliplatin and fluoropyrimidine regimens with or without bevacizumab as first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results of the TREE Study. J Clin Oncol. 2008 Jul 20;26(21):3523-9.
116. Pietrantonio F, Petrelli F, Coinu A, et al. Predictive role of BRAF mutations in patients with advanced colorectal cancer receiving cetuximab and panitumumab: a meta-analysis. Eur J Cancer. 2015 Mar;51(5):587-94.
117. Rowland A, Dias MM, Wiese MD, et al. Meta-analysis of BRAF mutation as a predictive biomarker of benefit from anti-EGFR monoclonal antibody therapy for RAS wild-type metastatic colorectal cancer. British Journal of Cancer. 2015;112(12):1888-1894.
118. Dahabreh IJ, Terasawa T, Castaldi PJ, Trikalinos TA. Systematic review: Anti-epidermal growth factor receptor treatment effect modification by KRAS mutations in advanced colorectal cancer. Ann Intern Med. 2011 Jan 4;154(1):37-49.
119. E Van Cutsem, et al. Cetuximab and Chemotherapy as Initial Treatment for Metastatic Colorectal Cancer. N Engl J Med 2009;360:1408-17.
120. Primrose J, Falk S, Finch-Jones M, Valle J, et al. Systemic chemotherapy with or without cetuximab in patients with resectable colorectal liver metastasis: the New EPOC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2014 May;15(6):601-11.
121. Price TJ, Peeters M, Kim TW, Li J, et al. Panitumumab versus cetuximab in patients with chemotherapy-refractory wild-type KRAS exon 2 metastatic colorectal cancer (ASPECCT): a randomised, multicentre, open-label, non-inferiority phase 3 study. Lancet Oncol. 2014 May;15(6):569-79.
122. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated

metastatic colorectal cancer: the PRIME study. J Clin Oncol. 2010 Nov 1;28(31):4697-705.
123. Cao D-D, Xu H-L, Xu X-M, Ge W. The impact of primary tumor location on efficacy of cetuximab in metastatic colorectal cancer patients with different Kras status: a systematic review and meta-analysis. Oncotarget. 2017;8(32):53631-53641.
124. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, et al. Final results from PRIME: randomized phase III study of panitumumab with FOLFOX4 for first-line treatment of metastatic colorectal cancer. Ann Oncol. 2014 Jul;25(7):1346-55.
125. Custodio A, Barriuso J, de Castro J, Martínez-Marín V, Moreno V, Rodríguez-Salas N, Feliu J. Molecular markers to predict outcome to antiangiogenic therapies in colorectal cancer: current evidence and future perspectives. Cancer Treat Rev. 2013 Dec;39(8):908-24.
126. Mancuso MR, Davis R, Norberg SM, et al. Rapid vascular regrowth in tumors after reversal of VEGF inhibition. Journal of Clinical Investigation. 2006;116(10):2610-2621.
127. Miles D, Harbeck N, Escudier B, Hurwitz H, Saltz L, Van Cutsem E, Cassidy J, Mueller B, Sirzén F. Disease course patterns after discontinuation of bevacizumab: pooled analysis of randomized phase III trials. J Clin Oncol. 2011 Jan 1;29(1):83-8.
128. Ferrara N1, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. Nat Rev Drug Discov. 2004 May;3(5):391-400.
129. Hurwitz HI, Tebbutt NC, Kabbinavar F, et al. Efficacy and Safety of Bevacizumab in Metastatic Colorectal Cancer: Pooled Analysis From Seven Randomized Controlled Trials. The Oncologist. 2013;18(9):1004-1012.
130. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. N Engl J Med. 2004 Jun 3;350(23):2335-42.
131. A. Grothey, E. E. Hedrick, R. D. Mass, S. Sarkar, R. K. Ramanathan, H. Hurwitz et al. Response rate using conventional criteria is a poor surrogate for clinical benefit on progression-free (PFS) and overall survival (OS) in metastatic colorectal cancer (mCRC): A comparative analysis of N9741 and AVF2107. Journal of Clinical Oncology 2006 24:18_suppl, 3516-3516.
132. Bennouna J, Sastre J, Arnold D, Österlund P, Greil R, Van Cutsem E, et al. Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): a randomised phase 3 trial. Lancet Oncol. 2013 Jan;14(1):29-37.
133. Masi G, Salvatore L, Boni L, Loupakis F, Cremolini C, et al. Continuation or reintroduction of bevacizumab beyond progression to first-line therapy in metastatic colorectal cancer: final results of the randomized BEBYP trial. Ann Oncol. 2015 Apr;26(4):724-30.
134. Yeh J, Frieze D, Martins R, Carr L. Clinical utility of routine proteinuria evaluation in treatment decisions of patients receiving bevacizumab for metastatic solid tumors. Ann Pharmacother. 2010 Jun;44(6):1010-5.
135. Izzedine H, Massard C, Spano JP, Goldwasser F, Khayat D, Soria JC. VEGF signalling inhibition-induced proteinuria: Mechanisms, significance and management. Eur J Cancer. 2010 Jan;46(2):439-48.
136. Yeh J, Frieze D, Martins R, Carr L. Clinical utility of routine proteinuria evaluation in treatment decisions of patients receiving bevacizumab for metastatic solid tumors. Ann Pharmacother. 2010 Jun;44(6):1010-5.
137. Tam BY, Wei K, Rudge JS, Hoffman J, et al. VEGF modulates erythropoiesis through regulation of adult hepatic erythropoietin synthesis. Nat Med. 2006 Jul;12(7):793-800.
138. Gordon MS, Margolin K, Talpaz M, Sledge GW Jr, Holmgren E, Benjamin R, Stalter S, Shak S, Adelman D. Phase I safety and pharmacokinetic study of

recombinant human anti-vascular endothelial growth factor in patients with advanced cancer. J Clin Oncol. 2001 Feb 1;19(3):843-50.
139. Besse B, Lasserre SF, Compton P, Huang J, Augustus S, Rohr UP. Bevacizumab safety in patients with central nervous system metastases. Clin Cancer Res. 2010 Jan 1;16(1):269-78.
140. Cortés J, Caralt M, Delaloge S, Cortes-Funes H, Pierga JY, Pritchard KI, Bollag DT, Miles DW. Safety of bevacizumab in metastatic breast cancer patients undergoing surgery. Eur J Cancer. 2012 Mar;48(4):475-81.
141. Kornprat P, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Schlemmer A, Rehak P, Langner C. Value of tumor size as a prognostic variable in colorectal cancer: a critical reappraisal. Am J Clin Oncol. 2011 Feb;34(1):43-9.
142. Adam IJ, Mohamdee MO, Martin IG, Scott N, Finan PJ, Johnston D, Dixon MF, Quirke P. Role of circumferential margin involvement in the local recurrence of rectal cancer. Lancet. 1994 Sep 10;344(8924):707-11.
143. Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. J Natl Cancer Inst. 2007 Mar 21;99(6):433-41.
144. Ceelen W, Van Nieuwenhove Y, Pattyn P. Prognostic value of the lymph node ratio in stage III colorectal cancer: a systematic review. Ann Surg Oncol. 2010 Nov;17(11):2847-55.
145. Choi HK, Law WL, Poon JT. The optimal number of lymph nodes examined in stage II colorectal cancer and its impact of on outcomes. BMC Cancer. 2010;10:267.
146. Al B. Benson, Deborah Schrag, Mark R. Somerfield, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. J Clin Oncol. 2004 Aug 15;22(16):3408-19.
147. Hamilton SR, Bosman FT, Boffetta P, et al. Carcinoma of the colon and rectum. In: WHO Classification of Tumours of the Digestive System, 4th ed, Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (Eds), International Agency for Research on Cancer, Lyon 2010. p.134.
148. Hyngstrom JR, Hu C-Y, Xing Y, et al. Clinicopathology and Outcomes for Mucinous and Signet Ring Colorectal Adenocarcinoma: Analysis from the National Cancer Data Base. Annals of surgical oncology. 2012;19(9):2814-2821.
149. Morikawa T, Kuchiba A, Qian ZR, et al. Prognostic significance and molecular associations of tumor growth pattern in colorectal cancer. Annals of Surgical Oncology. 2012;19(6):1944-1953.
150. Des Guetz G, Uzzan B, Nicolas P, et al. Microvessel density and VEGF expression are prognostic factors in colorectal cancer. Meta-analysis of the literature. British Journal of Cancer. 2006;94(12):1823-1832.
151. Petrelli F, Tomasello G, Borgonovo K, et al. Prognostic Survival Associated With Left-Sided vs Right-Sided Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Oncol. 2016 Oct 27.
152. Tejpar S, Stintzing S, Ciardiello F, et al. 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 Oct 10.
153. Taleb J, Kourie HR, Emile J-F, et al. Association of Prognostic Value of Primary Tumor Location in Stage III Colon Cancer With RAS and BRAF Mutational Status. JAMA Oncol. 2018 Jul 12;4(7):e173695
154. Pagès F, Kirilovsky A, Mlecnik B, et al. In situ cytotoxic and memory T cells predict outcome in patients with early-stage colorectal cancer. J Clin Oncol. 2009 Dec 10;27(35):5944-51.
155. Salama P, Phillips M, Grieu F, et al. Tumor-infiltrating FOXP3+ T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer. J Clin Oncol. 2009 Jan 10;27(2):186-92.

156. Angelova M, Charoentong P, Hackl H, et al. Characterization of the immunophenotypes and antigenomes of colorectal cancers reveals distinct tumor escape mechanisms and novel targets for immunotherapy. Genome Biology. 2015;16(1):64.
157. Harrison LE, Guillem JG, Paty P, Cohen AM. Preoperative carcinoembryonic antigen predicts outcomes in node-negative colon cancer patients: a multivariate analysis of 572 patients. J Am Coll Surg. 1997 Jul;185(1):55-9.
158. Thirunavukarasu P, Sukumar S, Sathaiah M, et al. C-stage in colon cancer: implications of carcinoembryonic antigen biomarker in staging, prognosis, and management. J Natl Cancer Inst. 2011 Apr 20;103(8):689-97.
159. Ghazi S, Berg E, Lindblom A, Lindforss U. Clinicopathological analysis of colorectal cancer: a comparison between emergency and elective surgical cases. World Journal of Surgical Oncology. 2013;11:133.
160. Schmoll HJ, Van Cutsem E, Stein A, et al. ESMO Consensus Guidelines for management of patients with colon and rectal cancer. a personalized approach to clinical decision making. Ann Oncol. 2012 Oct;23(10):2479-516.
161. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. Science. 1993 May 7;260(5109):816-9.
162. Lothe RA, Peltomäki P, Meling GI, et al. Genomic instability in colorectal cancer: relationship to clinicopathological variables and family history. Cancer Res. 1993 Dec 15;53(24):5849-52.
163. Modest DP, Ricard I, Heinemann V, et al. Outcome according to KRAS-, NRAS- and BRAF-mutation as well as KRAS mutation variants: pooled analysis of five randomized trials in metastatic colorectal cancer by the AIO colorectal cancer study group. Annals of Oncology. 2016;27(9):1746-1753.
164. Yokota T, Ura T, Shibata N, et al. BRAF mutation is a powerful prognostic factor in advanced and recurrent colorectal cancer. British Journal of Cancer. 2011;104(5):856-862.
165. Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, et al. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 2003 Jan 1;21(1):60-5.
166. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. N Engl J Med. 2004 Jun 3;350(23):2335-42.
167. Cunningham D, Lang I, Marcuello E, et al. Bevacizumab plus capecitabine versus capecitabine alone in elderly patients with previously untreated metastatic colorectal cancer (AVEX): an open-label, randomised phase 3 trial. Lancet Oncol. 2013 Oct;14(11):1077-1085.
168. Saltz LB, Clarke S, Díaz-Rubio E, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. J Clin Oncol. 2008 Apr 20;26(12):2013-9.
169. Passardi A, Nanni O, Tassinari D, et al. Effectiveness of bevacizumab added to standard chemotherapy in metastatic colorectal cancer: final results for first-line treatment from the ITACa randomized clinical trial. Ann Oncol. 2015 Jun;26(6):1201-7.
170. Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, et al. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 2003 Jan 1;21(1):60-5.
171. Grothey A, Hedrick EE, Mass RD, et al. (2008) Response-independent survival benefit in metastatic colorectal cancer: a comparative analysis of N9741 and AVF2107. J. Clin. Oncol. 26: 183-189
172. Folkman J. Tumor angiogenesis. (1974) Adv. Cancer Res. 19:331-358.
173. Hanahan D, Folkman J. (1996) Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. Cell. 86:353-364.

174. Verheul HM, Pinedo HM. (2003) Vascular endothelial growth factor and its inhibitors. Drugs Today (Barc). 39(suppl C):81-93.
175. Jubb AM, et al. (2006) Impact of vascular endothelial growth factor-A expression, thrombospondin-2 expression, and microvessel density on the treatment effect of bevacizumab in metastatic colorectal cancer. J. Clin. Oncol. 24:217-227.
176. Garcia AA, Hirte H, Fleming G, et al. (2008) Phase II clinical trial of bevacizumab and low -dose metronomic oral cyclophosphamide in recurrent ovarian cancer: a trial of the California, Chicago, and Princess Margaret Hospital phase II consortia. J. Clin. Oncol. 26: 76-82.
177. Ko AH, Dito E, Schillinger B, et al.(2008) A phase II study evaluating bevacizumab in combination with fixed-dose rate gemcitabine and lowdose cisplatin for metastatic pancreatic cancer: is an anti-VEGF strategy still applicable? Invest. New Drugs. 26: 463-471.
178. Dowlati A, Robertson K, Radivoyevitch T, et al. (2005) Novel phase I dose de-escalation design trial to determine the biological modulatory dose of the antiangiogenic agent SU5416. Clin. Cancer. Res. 11: 7938-7944.
179. Mansfield AS, Nevala WK, Lieser EAT, Leontovich AA, Markovic SN. The immunomodulatory effects of bevacizumab on systemic immunity in patients with metastatic melanoma. Oncoimmunology. 2013;2(5):e24436.
180. Manzoni M, Rovati B, Ronzoni M, et al. Immunological effects of bevacizumab-based treatment in metastatic colorectal cancer. Oncology. 2010;79(3-4):187-96
181. Roselli M, Formica V, Cereda V, et al. The association of clinical outcome and peripheral T-cell subsets in metastatic colorectal cancer patients receiving first-line FOLFIRI plus bevacizumab therapy. Oncoimmunology. 2016;5(7):e1188243.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Rutin tedavi olarak bevacizumab kullanılan metastatik kolorektal kanse hastalarda tedavi etkinliğinin belirlenmesinde biyobelirteçlerin rolü
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:16-685-15	Tarih: 26 Ekim 2015

Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygu bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan ç kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. 28.10.15 M. Mell

NOT: Çalışma için hastadan alınan materyalin, ileri analizlerde de kullanılacağı düşünülüyorsa, gönüllülerden" tabakalandırılmış olur formu" alınması öncelikli.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Mehmet MELLİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü.Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr İrfan SOYKAN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr Serdar ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Seher DEMİRER	Genel Cerrahi	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Toplantıda
Prof.Dr Şule ŞENGÜL	Nefroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.İnci İLHAN	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr Serap SIVRİ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Zarife ŞENOCAK	Hukuk	A.Ü.Hukuk Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	izinli
Prof.Dr.Banu ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr A. Ruhi SOYLU	Biyofizik	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Derya ÖZTUNA	Biyoistatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	izinli
Doç.Dr.Selami Koçak TOPRAK	Hematoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr.Nüket KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Uz.Dr.Önder İLGİLİ	Tıp Tarihi ve Etik	A.Ü.Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Mühübe SUTAY	İşletme	-	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	izinli

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.Mehmet MELLİ
İmza:

A.Ü.T.F.
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Aslı BOZER
28 Aralık 2015

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Rutin tedavi olarak bevacizumab kullanılan metastatik kolorektal kanserli hastalarda tedavi etkinliğinin belirlenmesinde biyobelirteçlerin rolü
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhıye/ANKARA
	TELEFON	0312 595 82 27
	FAKS	0312 310 62 70
	E-POSTA	etik@medicine.ankara.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Hakan AKBULUT			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Onkoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☐		
		Diğer ise belirtiniz: Prospektif Araştırma			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

A.Ü.T.F.
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Aslı GÖZER

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.Mehmet MELİ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.