T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

KOLOREKTAL KANSERLERDE TARAMA METODU OLARAK SEPTİN 9'UN CEA/FOBT VE KOLONOSKOPİYE GÖRE GÜVENİLİRLİĞİNİN BELİRLENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alp YILDIZ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Sezai LEVENTOĞLU

ANKARA
MART 2015

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

KOLOREKTAL KANSERLERDE TARAMA METODU OLARAK SEPTİN 9'UN CEA/FOBT VE KOLONOSKOPİYE GÖRE GÜVENİLİRLİĞİNİN BELİRLENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alp YILDIZ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Sezai LEVENTOĞLU

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Arastırma Projeleri Birimi tarafından SBE-01/2014-26 proje numarası ile desteklenmistir.

ANKARA
MART 2015

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	ALP YILDIZ
Baba Adı	BASRETTİN
Doğum Yeri/Tarihi	KÜTAHYA / 27/09/1983
Diploma Tarihi/Diploma No	2009-08-09/148186
Mezun Olduğu Fakülte	GaziOsmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı	Genel Cerrahi
İhtisas Süresi	**Yıl:** 5 **Ay:** 6
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	

UZMANLIK TEZİNİN ADI: "Kolorektal kanserlerde tarama metodu olarak septin 9'un CEA/FOBT ve kolonoskopiye göre güvenirliğininin belirlenmesi" isimli tezi hazırlamış kanuni rotasyonlarını bitirmiştir. Aşağıda belirtilen tarihte uzmanlık sınavına girebilmesi için gereğini bilgilerinize arz ederim.

JÜRİNİN KARARI: 17.03.2015 tarihinde Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi 7.kat toplantı salonunda Dr. Alp Yıldız tez savunması için Prof.Dr.Bülent Aytaç, Prof.Dr. Mehmet Ali Akkuş ve Doç.Dr. Sezai Leventoğlu tarafından tez savunmasının değerlendirilmesi yapılarak tezi başarılı bulunmuştur.

JÜRİ ÜYELERİ:

BAŞKAN
Prof. Dr.Bülent Aytaç

ÜYE
Prof.Dr. Mehmet Ali Akkuş

ÜYE
Doç.Dr. Sezai Leventoğlu

ÖNSÖZ

Her konuda destek olan, yönlendiren, geliştiren, bilgi, beceri ve tecrübelerini aktaran, bu günlere gelmemizde çok büyük emeği olan Prof. Dr. Bülent AYTAÇ başkanlığındaki Anabilim Dalımızın tüm hocalarına,

Tez yazım sürecinde bana bilgi ve deneyimleriyle yardımcı olan danışman hocam Doç. Dr. Sezai LEVENTOĞLU'na

Tez yazım sürecinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN'e ve Prof. Dr. Ayhan KUBAR'a

Beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Klinik-ameliyathane hemşire ve personelleri'ne,

Endoskopi-Proktoloji ekibi ve süreçte yardımcı olan tüm hastane çalışanları'na

Hep yanımda var olan Ailem'e

Sonsuz teşekkürler…

Alp YILDIZ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No:
ÖNSÖZ	**iii**
İÇİNDEKİLER	**iv**
KISALTMALAR	**vi**
ŞEKİLLER DİZİNİ	**vii**
TABLOLAR DİZİNİ	**viii**
1. GİRİŞ	**1**
2. GENEL BİLGİLER	**5**
2.1. Kolorektal Kanser Epidemiyolojisi	**5**
2.2. Kolorektal Kanserde Risk Faktörleri	**8**
2.2.1. Tarama Önerilerini Değiştiren Risk Faktörleri	**9**
2.2.2. Tarama Önerilerini Değiştirebilecek Risk Faktörleri	**10**
2.2.3. Tarama Önerilerini Değiştirmeyen Risk Faktörleri	**10**
2.3. Kolorektal Kanserde Koruyucu Faktörler	**11**
2.4. Kolorektal Kanser Klinik Özellikleri	**12**
2.5. Kolorektal Kanserde Evreleme	**14**
2.5.1. Kolorektal Kanserin Modifiye Dukes Klinikopatolojik Sınıflaması	**14**
2.5.2. TNM Sınıflaması	**15**
2.6. Kolorektal Kanserde Tarama Yöntemleri	**17**
2.6.1. Guaiac Tabanlı GGK Testi	**18**
2.6.2. Fekal İmmünokimyasal Testler	**18**
2.6.3. Fekal DNA Testi	**19**
2.6.4. Çift Kontrast Baryumlu Enema	**19**
2.6.5. Sigmoidoskopi	**20**
2.6.6. Kolonoskopi	**20**
2.6.7. Sanal Kolonoskopi	**21**
2.6.8. Kapsül Endoskopi	**22**
2.6.9. Septin 9	**22**

2.7. Kolorektal Kanserde Tarama Rehberleri **23**
2.8. Yeni Nesil Biyomarkırlar **24**
3. HASTALAR VE YÖNTEM **27**
3.1. Septin 9 **28**
3.1.1. Örneklerin Toplanmasi **28**
3.1.2. DNA İzolasyonu **29**
3.1.3. Primer Dizaynı **30**
3.1.4. DNA Bisülfit Çevirimi **31**
3.1.5. PCR Testleri **31**
3.1.6. Melting Curve Analizi **32**
3.2. Gaytada gizli kan **33**
3.3. Karsinoembryojenik antijen **33**
3.4. İstatiksel Yöntemler **33**
4. BULGULAR **34**
5. TARTIŞMA VE SONUÇ **42**
6. ÖZET **48**
7. ABSTRACT **49**
8. KAYNAKÇA **50**

KISALTMALAR

SEPT9	**:**	Septin 9 Geni
KRK	**:**	Kolorektal Kanser
GGK	**:**	Gaytada Gizli Kan
gFOBT	**:**	Guaiac Tabanlı Gaytada Gizli Kan Testi
FIT	**:**	Fekal İmmunokimyasal Test
CEA	**:**	Karsinoembriyojenik Antijen
SK	**:**	Sanal Kolonoskopi
ÇKBE	**:**	Çift Kontrast Baryum Enema
FAP	**:**	Ailesel Adenomatöz Polipozis
HNPCC	**:**	Herediter NonPolipozis Kolorektal Kanser

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1. Dünya genelinde yaşa standardize kolorektal kanser hızı 7

Şekil 2. Türkiye'deki kanser insidands verileri. 8

Şekil 3. Kolon ve rektum kanserinin evrelenirilmesi 17

Şekil 4. Çalışmanın Dizaynı 28

Şekil 5. Çalışma Özeti 32

Şekil 6. Hasta ve Kontrol örneklerinin EvaGreen floresan boya kullanılarak yapılan Real time PCR testlerini gösteren lineer amplifikasyon eğrileri. C_t değerlerinin >30 olduğu görülmektedir 37

Şekil 7. Kolon kanserli hastaların DNA örneklerinin bisülfit reaksiyonu sonucu C (Sitozin) nükleotidinin metile olması sonucu, U/T (Urasil/Timin) nükleotidine çevrilememesi sonucu elde edilen Melting Curve pikleri 38

Şekil 8. Kolon kanseri olmayan hastaların DNA örneklerinin bisülfit reaksiyonu sonucu C (Sitozin) nükleotidinin metile olmaması sonucu, bu C (Sitozin) nükleotidinin U/T (Urasil/Timin) nükleotidine çevrilmesi sonucu elde edilen Melting Curve piklerinin oluşmaması. C (Sitozin) nükleotidinin U/T (Urasil/Timin) nükleotidine çevrilmesi işlemi ile spesifik metilasyon primerlerinin hedef DNA'yı amplifiye edemediğini göstermektedir. 39

Şekil 9. Kolon kanserli hastaların DNA örneklerinin bisülfit reaksiyonu sonucu spesifik primerler ile çoğaltılması ve melting curve analizlerinin yapılmasını takiben elde edilen özgül melting ısısını göstermektedir 40

Şekil 10. Kolon kanseri olmayan hastaların DNA örneklerinin bisülfit reaksiyonuna sokulmadan önce spesifik primerler ile çoğaltılması ve melting curve analizlerinin yapılmasını takiben elde edilen özgül melting ısısını göstermektedir. 41

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1. Kolonoskopik biyopsi sonucuna göre hasta sonuçları 36

Tablo 2. SEPT9'un CEA ve GGK ile karşılaştırılması 37

1. GİRİŞ

Kolorektal kanser (KRK) tüm dünyada yüksek mortalite ve morbiditeye sahip yaygın bir kanser türüdür. Moleküler ve biyolojik gelişmeler sonrasında yapılan araştırmalarla kanser patogenezinin açıklığa kavuşması ile genetik ve çevresel etkilerin uzun süre sonunda oluşturduğu KRK'in erken evrelerde saptanarak müdahale edilebilmesi bu kanserin önlenebilir olduğunu gösterir.[1] KRK'lerinde erken teşhis, mortalite ve morbidite azalmasının yanısıra tedavi maliyetlerini de düşürmektedir. KRK'i erken evrede teşhis etmenin yolu ise hastalığı asemptomatik evrede tarama programları ile yakalamaktır. 2000 yılında ABD başkanı Bill Clinton KRK'de farkındalık yaratmak adına mart ayını KRK farkındalık ayı olarak belirlemiştir. Her yıl mart ayında KRK farkındalık etkinlikleri yaratılmaktadır. Mavi yıldız bu etkinliğin simgesi olmuştur. 2008 yılından itibaren de Europa Colon Avrupa'da benzer etkinlikler yapmaktadır. Ülkemizde de Türkiye Halk Sağlığı Kurumu bünyesindeki Kanser Savaş Dairesi 2012'den itibaren KRK'de farkındalık etkinlikleriyle halkı bilinçlendirmektedir. Amerikan Kanser Derneği'nde (ACS) yayınlanan çalışmalara göre ilk hedef olarak KRK'de tarama oranlarının 2018'de %80 ulaşmasını hedeflemektedir ve bununla birlikte 20 yıllık süreçte 277.000 yeni vakanın ve 203.000 ölümün önüne geçileceği öngörülmektedir.[2] KRK'in 2020 sonunda insidansında %17 mortalitesinde %19 azalma, 2030'da dünya genelinde insidansta %22 ve mortalitede %33 azalma beklenmektedir.[2] Bu nedenle tarama programlarının önemi, uygulanabilirliği önplana çıkmaktadır. Tarama programlarında gaitada gizli kan testi, sigmoidoskopi, kolonoskopi ve görüntüleme yöntemleri kullanılmaktadır. Gayta tabanlı testler non invaziv ucuz fakat düşük özgüllük ve duyarlılığa sahip yanlış

pozitifliği çok yüksek olan bir testlerdir. Standart guaiac tabanlı gaytada gizli kan testi (gFOBT) KRK'de sadece %33-75 tanı koymaktadır.[3] KRK'de daha pahalı bir yöntem olan insan hemoglobinine spesifik fekal immun test (FIT) %60-85 duyarlılığa sahiptir.[4] Toplum tabanlı taramalarda yüksek ve gereksiz kolonoskopi ihtiyacı gerektirmesinden ötürü önerilmemektedirler.[5] 2006 yılında İngiltere'de ve Avrupa Konsey kararında önerilen KRK tarama metodu dışkı tabanlı çalışmalarının uyumun düşük olması nedeni ile, yeni jenerasyon kan tabanlı biyomarkerlara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.[3] Taramada kullanılan gFOBT KRK mortalitesini %15-33 azaltmasına, düşük maliyetine rağmen düşük duyarlılığı olsada uygun bir tarama yöntemi gibi gözüksede yüksek yanlış negatif ve pozitif oranları yeni arayışlara neden olmaktadır.[6] Sigmoidoskopide splenik fleksuraya kadarki kısa bir segment görüntülenebilmektedir. Çok merkezli randomize kontrollü çalışmalarda sigmoidoskopi KRK insidansını %23, distal kolon kanserleri insidansında %50 azalttığı tespit edilmiştir. KRK mortalitesini ise %31 azaltmaktadır.[7] Kolonoskopinin %95'in üzerinde özgüllüğü bulunmaktadır. Vaka kontrol çalışmalarında KRK insidansını %53-72, mortalitesini %31 azalttığı gösterilmiştir.[8] Kolonoskopi hem tarama hem tedavi amaçlı kullanıldığı gibi yüksek duyarlılık ve özgüllükle olması nedeniyle KRK taramalarında altın standart olarak değerlendirilmiştir.[9] Ancak kolonoskopide bağırsak hazırlığının gerekliliği, uzman hekim gereksinimi, pahalı bir uygulama olması, hastaya yönelik invaziv bir girişim olması, ulaşılabilirliğinin az olması ve ciddi komplikasyonlara yol açabilecek olması bu yöntemin limitasyonları arasında yer almaktadır.[10] Altın standart olarak kabul edilse de bu limitasyonlar nedeniyle daha

basit, uygulanabilir, invaziv olmayan tarama metodlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Tümör belirteci olarak kullanılan karsino embriyojenik antijen (CEA) hücre adezyonuyla ilişkili bir glikoprotein olup sigara kullanımı, diyabet, ülseratif kolit, pankreatit gibi benign nedenler yanısıra KRK, pankreas kanseri, mide kanseri, meme kanseri gibi malign nedenlerle de yükseltmektedir. Bu nedenle tarama yöntemi olarak kullanılması önerilmemektedir. Herhangi bir sağkalım yararının olmadığını belirten çalışmalarla birlikte sadece cerrahi ve sistemik tedavinin takibinde kullanılması pratik bir marker olarak değerlendirilmiştir. CEA yüksekliği lokal bölgesel nüks ya da metastazı desteklemektedir.[11,12] Moleküler teknolojideki ilerlemeler, mutasyon analizleri ve genom haritalaması KRK açısından bir dizi varsayısal biyomarkerin keşfine neden olmuştur. Moleküler çalışmaların artmasıyla KRK'de kullanılabilecek biyomarkerların sayısı artış göstermiştir. KRK de normal mukozanın prekürsör adenomaya ve sonunda kansere dönüşümünde birbiri ardına gelen genetik ve epigenetik değişikliklerden kaynaklandığı bilinmektedir. Kolondaki polipoid lezyonların kansere dönüşmesinin yaklaşık 10 yıl sürmesi nedeni ile kolonik poliplere zamanında erken tanı konulması ve çıkarılması tümörün önlenebilir olduğunu göstermektedir. Bu da mortalitede ciddi azalmaya neden olmaktadır.[13] Sporadik KRK'de bozuk DNA metilasyonu çok erken evrelerde meydana gelmektedir.[14] Metillenmiş DNA deriveleri sadece tümör dokusunda değil kan örneklerinde de bulunabilir.[15] DNA metilasyon tabanlı çalışmalarda multiple methy light gerçek zamanlı PCR ile melting curve analizi yapılmaktadır.[16] 2008 yılında Lofton-Day ve ark. SEPT9'un KRK hastalarında metile SEPT9'a dönüşmesinden yola çıkarak SEPT9'u

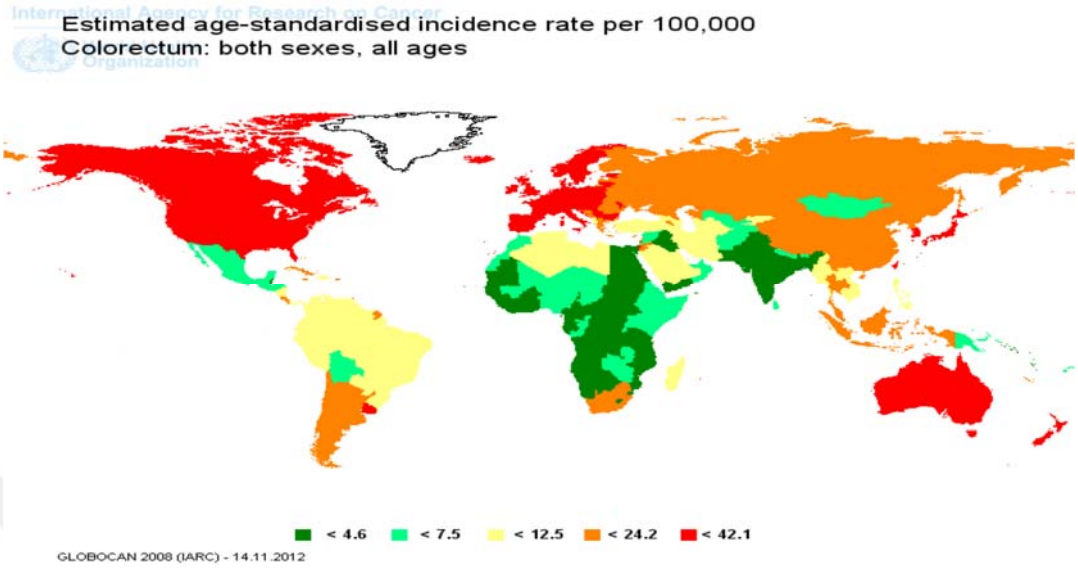
biyomarker olarak kullanmıştır. Yapılan bu çalışmalar SEPT9'un KRK'de tüm evrelerde ve tüm lokalizasyonlarda yüksek duyarlılık ve seçiçilik potansiyeli olduğunu göstermiştir.[17] KRK taramasında minimal invaziv değerlendirme yöntemi olan SEPT9'un klinik çalışmalarda heyecan oluşturması, rutin tarama metodu olarak kullanılmasına yönelik çalışmalara ışık tutmuştur. Bizim çalışmamızdaki ana hedef SEPT9'un duyarlılık ve özgüllüğünü KRK için değerlendirmek, aynı zamanda rutin tarama metodu olan GGK ve tümör markerı olan CEA ile sonuçlarını karşılaştırmaktır. Hedeflenen ülkemiz tarama yöntemlerinde koldan alınan kandan SEPT9 tayini ile test pozitifliğinde kolonoskopi uygulaması sağlamak, kolonoskopinin yüksek maliyeti ve olası komplikasyonlarından hastaları korumaya çalışmaktır. SEPT9 tarama yöntemi olarak kullanılarak risk faktörü olan bireyler ve 50 yaş yukarısında hastalar kolaylıkla irdelenmektedir. SEPT9'un pozitif olması mutlak kolonoskopi ihtiyacını doğuracak ve daha çok insan tarama yönteminin kolaylığı ile taranabilecektir. Basit yöntemle hastalar tarama yöntemine uyum sağlayabilecektir. Hedeflenen tarama oranlarına sahip olunabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolorektal Kanser Epidemiyolojisi

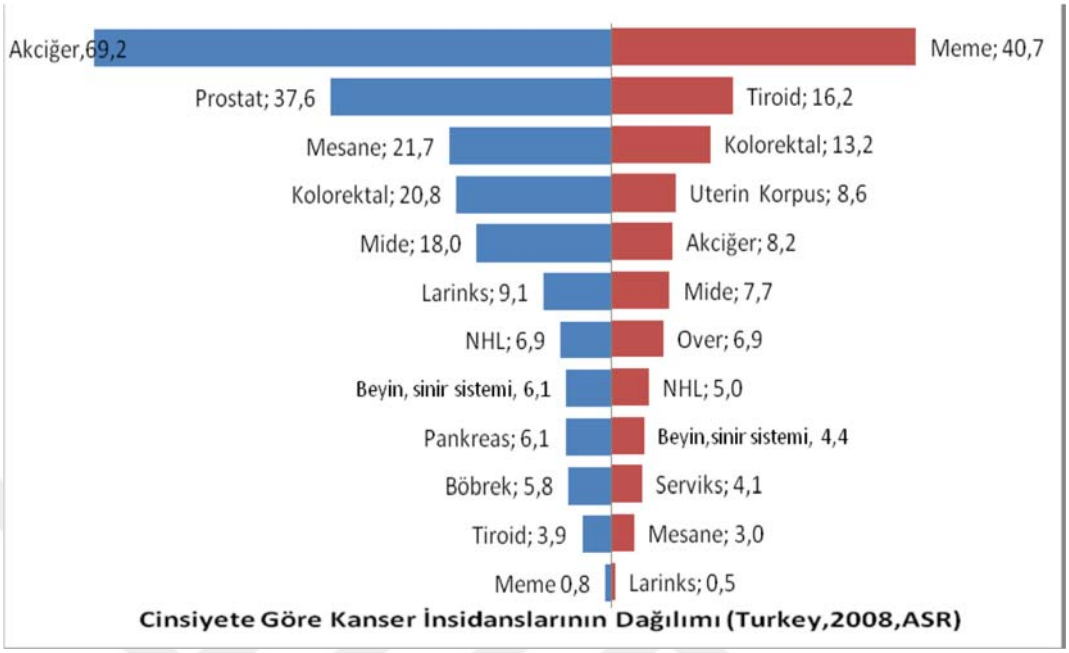
Kolorektal kanser (KRK) Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ve diğer Batılı ülkelerde, yüksek mortalite ve morbiditeye sahip yaygın bir kanser türüdür. 2008 GLOBOCANCER verileriyle 1.2 milyon kişinin yeni tanı aldığı ve 808.700 kişinin ölümüyle sonuçlanan dünya çapındaki en yaygın üçüncü kanserdir.[18] Yıllık yaklaşık 132.700 yeni vaka ile karşımıza çıkmaktadır. Bu vakaların 93.090'ı kolon kanseri olarak belirlenirken geri kalanı rektum kanseri olarak kayıtlara geçmektedir. Kansere bağlı ölümlerin yüzde 8'lik kısmını oluştururken yılda yaklaşık 49.700 kişi hayatını KRK'e bağlı olarak kaybetmektedir.[19] ABD'de KRK ile ilgili insidans, mortalite ve sağ kalım eğilimlerine belirlemeye yönelik bir program (SEER; Survey of Epidemiology and End Results) ile elde edilen veriler doğrultusunda KRK ile ilgili bilgi sahibi olunmaktadır.[20] En yüksek insidanslar Kuzey Amerika, Avustralya, Kuzey ve Batı Avrupa'da iken gelişmekte olan ülkelerde özellikle Asya ve Afrika'da daha az insidansta görülmektedir.[18] Ayrıca KRK gelişimi açısından kentsel yörelerin kırsal kesime göre daha yüksek riske sahip olduğu ifade edilmektedir.[21] Yapılan bir çalışmada düşük sosyoekonomik durumun KRK gelişme riskinde yüksek sosyoekonomik duruma göre yüzde 30'luk bir artış yarattığı gösterilmektedir.[22] ABD'de son 15 yılda KRK insidansı yıllık yüzde 2-3 oranında azalmasına rağmen Doğu Avrupa ve Doğu Asyada insidans giderek artmaktadır.[23] KRK insidansı erkeklerde kadınlara göre yüzde 25 ve afriko-amerikanlarda beyazlara göre yüzde 20 daha yüksektir.[24] Sporadik KRK

için en önemli risk faktörü yaştır. 40 yaş öncesi yaygın görülmeyen KRK, 40 ile 50 arası insidans artışı gösterirken, yaşa bağlı asıl insidans artışı ise 50 yaş sonrası her dekatta kendini göstermektedir.[25] KRK olgularının yüzde 90'ı 50 yaşından sonra görülmektedir.[26] 50-75 yaş yüksek risk gurubu olarak nitelendirilmektedir. Ancak KRK'lerinin en az %40'ının 75 yaşın üzerinde tespit edildiği düşünüldüğünde, 75 yaşın üzerinde de taramanın devam edilmesi gerekliliği vurgulanmaktadır. 40 yaş altında rastlanan KRK olguları ise sadece %5'i temsil etmektedir.[27] Klinik semptomu ve taramayı etkileyecek faktörleri olanlar haricinde ortalama risk grubuna giren asemptomatik bireyler için tarama testlerinin başlatılması için 50 yaşı sınır kabul etmek bu gerekçelere dayanmaktadır. Moleküler ve biyolojik gelişmeler sonrasında yapılan araştırmalarla kanser patogenezinin açıklığa kavuşması ile genetik ve çevresel etkilerin uzun süre sonunda oluşturduğu KRK' nin erken evrelerde saptanarak müdahale edilebilmesi bu kanserin önlenebilir olduğunu göstermektedir.[28] ABD ve pek çok batılı ülkede mortalite oranları azalırken; sınırlı kaynakları ve sağlık alt yapısı eksikleri olan Orta Amerika, Güney Amerika ve Doğu Avrupa'da KRK'ya bağlı ölümler artmaktadır (Şekil 1). Beş yıllık sağkalım tüm evreler ve tipler dahil edilerek yapılan bir çalışmada yüzde 61 olarak tespit edilmiştir.[20]



Şekil 1. Dünya genelinde yaşa standardize kolorektal kanser hızı (ASR-YSH100000'de)

Türkiye'de Sağlık Bakanlığı'nın 2007-2008 yıllarında oniki ildeki kanser kayıt merkezi verilerine göre, KRK görülme sıklığı açısından tüm kanserler içinde %7.8 ile kadınlarda üçüncü ve %7.5 ile erkeklerde dördüncü sırada yer almaktadır (şekil 2). Şu anda KRK taramaların kapsama oranı ülkemizde %20-30 arasında olup teşhis edilen olguların yarısından çoğu ileri evrede tespit edilmektedir. KRK taramaların olumlu sonuçlarına ulaşmak için en az %70 oranında bir kapsama oranı sağlanmalıdır.[29]



Şekil 2. Türkiye'deki kanser insidands verileri.

2.2. Kolorektal Kanserde Risk Faktörleri

KRK'in yaşam boyu görülme sıklığı %2.4-5 olarak bildirilmektedir. Kişide var olan risk faktörleriyle bu oran yükselmektedir.[30] KRK'lerin yüzde doksandan fazlası daha önce gelişmiş bir adenomdan süreç içinde karsinoma dönüşmekte ve ortalama 10 yılı bulan bu süreç Adenom-Karsinom Sekansı olarak bilinmektedir.[31] Ailesel Adenomatozis Polipozis Koli (FAP) ve Herediter Non-polipozis Kolorektal Kanser (HNPCC) ailesel kolon kanserleri içinde en yaygın görülenler olmalarına karşılık, bunlar KRK vakalarının % 5'ten azını oluşturmaktadır.[30] Bu herediter formlarda fertler mutant genlere sahip olduğu için adenomun karsinoma dönüşüm süreci daha hızlı olmaktadır, bu olgular rutin tarama önerileri ile tespitinde gözden kaçma ihtimali yüksek olduğundan tarama önerilerininde değişime neden olmaktadır.

2.2.1.Tarama Önerilerini Değiştiren Risk Faktörleri

Herediter sendromlar; KRK'ların genetik bozukluklar sonucu geliştiği bilinmekle birlikte birey gen anomalisiyle doğarsa kalıtsal (herediter) kabul edilirken; doğum sonrası çevresel etkenlerle gelişen mutasyonlarla oluşan genetik bozukluklar ise sporadik olgular olarak kabul edilmektedir. Adenom-karsinom sekansı sporadik vakalarda yaklaşık 10 yıl sürerken herediter olgularda süreç daha kısadır. En yaygın iki herediter formdan FAP olgularında tümör başlaması hızlıyken HNPCC olgularında tümör progresyon dönemi daha kısa süreçte tamamlanır.[32]

İnflamatuar bağırsak hastalıkları; kronik süreçte inflamatuar bağırsak hastalığına yakalanan bireylerde KRK gelişme riski ciddi oranlarda artmıştır. Özellikle ülseratif kolitli hastalarda genel populasyona göre 5 ile 15 kat artmaktadır.[33] Hastalık 8 yılı aştıktan sonra risk artmaya başlar ve 10 yıldan sonraki takip eden her dekatta yüzde 10 artar ve 25 yılsonunda yüzde 30'a ulaşır.[34] İnflamatuar kolit tedavisi için kullanılan bazı ajanlarda KRK riskini azaltmaktadır. Crohn Hastalığında da KRK artmış risk bulunmaktadır.[33]

Radyoterapi uygulamaları; çocukluk çağında abdomene uygulanan radyasyon sonrası gastrointesinal kanserlerin özellikle de KRK inisdansı artmıştır.[35] Pediatrik Onkoloji grubunun önerileri dahilinde çocukluk döneminde abdomene 30 Gy ve üzerinde radyoterapi alan hastaların taramalarında; radyasyon sonrası 10 yılda ya da 35 yaşından itibaren 5 yılda bir kez kolonoskopi takibi yapılmaktadır.[36] Prostat kanseri için radyoterapi uygulanan hastalarda da KRK riskinde artış gözlenmiştir.[37]

2.2.2.Tarama Önerilerini Değiştirebilecek Risk Faktörleri

Etnik köken ve cinsiyet; ABD'de tüm etnik kökenler içinde afro-amerikanlar KRK görülme oranı en yüksek olan gruptur. KRK bağlı ölümler beyazlara göre yüzde 20 daha fazladır ve 50 yaş altında da sık görülür. Bu yüzden KRK taramalarının afro-amerikanlarda 45 yaşından itibaren kolonoskopi ile yapılması önerilir.[38,39,40] KRK mortalitesi erkeklerde kadınlardan yüzde 25 daha fazladır.[41]

Akromegali; akromegaliyle birlikte kolon adenomu ve KRK görülme sıklığı artmaktadır. [42]

Renal transplantasyon; renal transplantasyon sonrası uzun süreli immunsüpresif kullanımına bağlı KRK riskinde artış olmaktadır.[43,44]

2.2.3.Tarama Önerilerini Değiştirmeyen Risk Faktörleri

Pek çok çalışmada insülinin kolondaki tümör hücrelerini uyaran önemli bir büyüme faktörü olduğu; insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) ve bağlayıcı proteinin (IGFBP-3) KRK riskini arttırdığını göstermiştir.[45,46,47,48]

Andojen yoksunluk tedavisi; cerrahi olarak orşektomi ya da medikal tedavi olarak gonadotropin releasing hormon (GnRH) agonistlerinin kullanımı KRK riskini arttırmaktadır.[49]

Kolesistektomi sonrası 33 yıl takip edilen 278.460 hastada yapılan araştırmada sağ kolon kanser riski kolesistektomi sonrası artmaktadır.[50]

Alkol; alkol kullanımı da KRK riskini arttırmaktadır.[51]

Obezite; obezlerdeki KRK riski normal kilodakine göre yaklaşık 1.5 kat fazladır.[52]

Diğer Risk Faktörleri: Koroner kalp hastalığı KRK riskini arttırmaktadır.[53] Sigara KRK insidans ve mortalitesini arttırmaktadır. Geniş mesane cerrahisi sonrası yapılan üreterokolik anastamozlarda ve üreter ağzına yakın yerlerde KRK riski artmaktadır. Kırmızı et ve yüksek ateşte hazırlanan et tüketimi düşük de olsa KRK riskini arttırmaktadır. BRCA (BReast CAncer) geni, baret özefagus, bazı bakteriyal ajanlar, viral ajanlar ve hodgkin lenfoma ile KRK riskinin ilişkili olduğu bazı çalışmalar mevcuttur.[54]

2.3. Kolorektal Kanserde Koruyucu Faktörler

Fiziksel aktivite; 21 çalışmadan derlenen bir meta analizde fiziksel aktivitelerle proksimal kolon kanser riskinde yüzde 27, distal kolon kanser riskinde yüzde 26 azalma tespit edilmiştir.[55]

Diyet; Pek çok epidemiyolojik çalışma; meyve sebze ağırlıklı nişastadan uzak beslenmenin, diyette fiber, folik asit, folat, vitamin B_6, günlük kalsiyum ve vitamin D, magnezyum eklemenin, diyette balık tüketilmesinin ve bazı ilaçların (aspirin, sulindak, postmenopozal hormonoterapi ilaçları, statinler, antioksidanlar, bifosfonatlar, anjiotensin II inhibitörleri) eklenmesi KRK riskini azalttığını göstermektedir.[56,57,58]

2.4. Kolorektal Kanser Klinik Özellikleri

Kolorektal kanserlerin semptomları çeşitlilik göstermektedir. Rektal kanama, barsak alışkanlığındaki değişiklikler ve karın ağrısı gibi sıklıkla ortaya çıkan semptomların araştırılması sonucu hastalara kolorektal kanser tanısı konulmaktadır. Sağ kolon tümörlerinde, barsak alışkanlıklarında her hangi bir değişiklik olmaması tipik özellikleri arasında yer almaktadır. Ancak mukus sekrete eden büyük çaplı tümörler diareye neden olabilmektedir. Hastaların bazıları koyu renkli, katran gibi gaita çıkardıklarını ifade etmektedir. Ancak sağ kolon tümörleri çoğunlukla gaitada gizli kan testi ile tespit edilmektedir.[34] Sağ kolon tümörlerinde defekasyonla birlikte genellikle fark edilmeyen sızıntı tarzında kronik kan kaybı izlenmektedir. Hastalardaki kronik kan kaybı yorgunluk, halsizlik ve çarpıntı ile sonuçlanan demir eksikliği anemisine neden olabilmektedir. Karın ağrısı, sol kolon lokalizasyonlu kanserlerde ve özellikle alt kadranlarda ortaya çıkmaktadır. Ağrılar kramp tarzında olup, barsak hareketleri ile birlikte artıp, azalabilmektedir. Bu hastalarda sıklıkla barsak alışkanlıklarında değişiklik ve defekasyonla taze renkli kanama şikayetleri ön plana çıkmaktadır. Defekasyon sıklığı tıkanma yaratan tümörlerde azalırken, mukus salgılayan ya da kanamaya neden olan tümörlerde artmaktadır. Transvers kolon tümörlerinde klinik özellikler, tümörün lokalizasyonuna göre değişkenlik göstermektedir. Transvers kolonun sağ tarafına yerleşen tümörler, sağ üst katran ağrısı ve bulantı gibi hepatobiliyer patolojiyi düşündürecek semptomlar verirken, sol tarafına yerleşen tümörler yemek sonrası dolgunluk hissi ve epigastrik ağrı gibi mide patolojilerini taklit eden semptomlar vermektedir.[26] Kilo kaybı ve ateş, kolon

kanserlerinde daha nadir görülen ve akut olarak ortaya çıkmayan semptonlardır. Diğer bulgularla beraber hastaların yaklaşık %50'sinde kilo kaybı tespit edildiği bildirilmektedir.[34] Kilo kaybının varlığı kötü prognostik faktörlerden biridir. İleri evre agresif kolon kanserlerinde nadiren septisemi sonucu ateş görülebilmektedir.[34]

Kolorektal kanserli hastaların çoğunluğunda, başlıca görülen akut semptomlar kolonik tıkanma ve perforasyon olarak bilinmektedir. Kolonik tıkanma, ileri evre tümörlerde ve özellikle de yaşlı hastalarda görülmektedir. Kolorektal kanserli hastalarda tam tıkanma %10'un altında tespit edilmektedir. Tam tıkanmanın olması acil tanı ve cerrahi tedaviyi gerektirmektedir. Tam tıkanıklığın geliştiği hastalar, gaz-gayta çıkaramama, bulantı-kusma, abdominal distansiyon ve kramp tarzındaki karın ağrısı şikayetleri ile acil servise başvurmaktadırlar. Distansiyon, timpanik palpasyonu hastaların fizik muayenesinde tespit edilmektedir. Çok nadir kolon kanserlerinin ilk bulgusu metastaz yaptığı organa ait klinik özellikler ile ortaya çıkmaktadır.[34] Masif karaciğer metastazı sarılık ve kaşıntıya neden olabilmektedir. Asit nedeniyle distansiyon görülebilmektedir. Rektal kanserlerin en belirgin klinik özelliği hematokezyadır. Hastalar aylarca, yıllarca rektal taze renkli kanamayı fark etmelerine rağmen hekime gelmekten çekinmektedir. Kanama dışındaki diğer semptomlar mukuslu rektal akıntı, rektal ağrı, tenesmus ve gaita kalibrasyonunda azalma olarak bilinmektedir.

2.5. Kolorektal Kanserde Evreleme

Tümörün invazyon ve prognostik önemi 1930'da Dukes tarafından ileri sürülmüştür ve takiben 1932 yılında tekrar gözden geçirilmiştir. Dukes 1944 yılında, piyeslerin çok titiz yapılan, birçok diseksiyonundan sonra incelemesi, bu sınıflamayı modifiye etmiştir. Lenf nodu tutulumuyla birlikte olan inferior mezenterik arterin bağlandığı yerdeki negatif lenf nodu C_1 olarak adlandırmıştır. C_2 de ise IMA' nın bağlandığı yerdeki lenf noduna metastaz vardır. Bunlara ilaveten D kategorisinde, tümörün uzak organlara yayılmış olması kabul edilir.

2.5.1. Kolorektal Kanserin Modifiye Dukes Klinikopatolojik Sınıflaması

Dukes A Kanser barsak duvarındadır.

Dukes B Perirektal ya da perikolonik dokuya kanser direkt olarak yayılır, lenf nodu metastazı yoktur.

Dukes C Bölgesel lenf nodu metastazı vardır.

Dukes D Omental implantasyon, peritoneal yayılım mevcuttur, karsinom cerrahi rezeksiyon sınırını aşmıştır.

Diğer araştırıcılar Dukes klasifikasyonunu daha da genişleterek, alt dallara ayırarak, metastatik bulguları içine alan, farklılaşmanın derecesi, tümör morfolojisi ve histolojik tipi de içeren bir sınıflandırma yapmıştır.

TNM klasifikasyonu olarak bilinen bu sınıflama 2010 yılında AJCC (American Joint Committee on Cancer) tarafından 7. kez düzenlenerek yayınlanmıştır.

2.5.2. TNM Sınıflaması (Kaynak AJCC 7th Edition, 2010)

Primer Tümör (T)

Tx Primer tümör değerlendirilemiyor

T_0 Primer tümöre ait belirti yok

T_{is} Carsinoma in situ: intraepithelial veya lamina propria invazyonu

T_1 Tümör submukozoya invazedir.

T_2 Tümör muskularis propriayi invaze etmiştir.

T_3 Tümör muskularisi geçmiş subserozaya invazyon var.

T_{4a} Tümör visceral peritonun yüzeyine penetre olmuş

T_{4b} Tümör diğer organ ya da dokulara yapışık ya da direkt invazyonu var

Bölgesel Lenf Nodları (N)

N_x Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor.

N_0 Bölgesel lenf gangliyonu metastazı yok.

N_1 1-3 perikolik lenf gangliyonu metastaz mevcut.

N_{1a} 1 tane bölgesel lenf nodunda metastaz

N_{1b} 2-3 tane bölgesel lenf nodu metastazı

N_{1c} Subseroza ve mezenterik bölgede tümör depozitleri, bölgesel lenf nodu metastazı olmadan perirektal veya nonperitonealize periton dokusu olması

N_2 4 veya daha fazla lenf gangliyonu pozitif

N_{2a} 4-6 bölgesel lenf nodunda metastaz

N_{2b} 7 veya daha fazla bölgesel lenf nodunda metastaz

Uzak Metastaz (M)

M_0 Uzak metastaz yok

M_1 Uzak metastaz mevcut

M_{1a} Sadece tek organa olan metastaz

M_{1b} Birden fazla organa/çevre dokuya ve peritona metastaz

Bu bulgulara göre klinik evreleme;

Evre 1: $T_{1,2}$ No Mo (DUKES A)

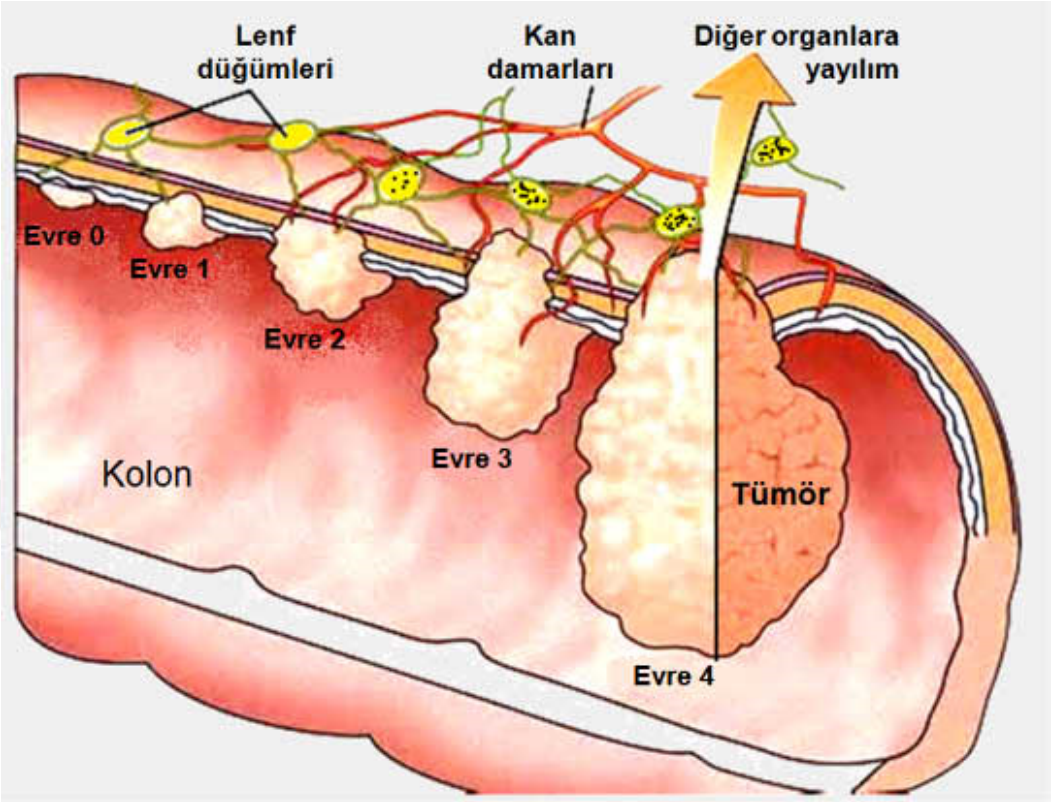
Evre 2: $T_{3,4}$No Mo (DUKES B)

Evre 3: $T_{1,2,3}$ olabilir yani (T) o kadar önemli değil. Eger $N_{1,2,3}$ Mo ise Evre 3'tür. (DUKES C)

Evre 4: T ve N ne olursa olsun M_1 olan tüm tümörler Evre 4 olarak ifade edilmektedir (Şekil 3).

Hastada lenf bezlerinin durumu ve pozitif olanlarının sayısı primer tümörün boyutları, çevre doku ve organlarla olan invazyonu, uzak metastazın olup olmadığı; kliniğe etki eden en önemi klinik ve patolojik faktörlerdir.

Tümörün lokal yayılımı rezeksiyon sınırının belirlenmesinde ve lokal tümör ekiminin önlenmesinde önemlidir. Bu nedenle ameliyat öncesi klinik evreleme yapılması gerekmektedir. Doğru klinik evreleme için fizik muayene ve radyolojik tetkiklerden (bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme, endoanal ultrasonografi, ultrasonografi, vs) yararlanılır. Klinik evrelemede kullanılan yönteme göre, yapılan tetkikin baş harfi belirtilmelidir (CT, MR, U gibi). Radyolojik evrelemenin güvenilirliği en iyi şartlarda %85-90 oranlarındadır. Kesin evreleme ancak patolojik inceleme ile yapılabimektedir. Klinik sınıflamanın (cTNM) tanımları patolojik sınıflamanın (pTNM) tanımlarına karşılık gelmektedir.



Şekil 3. Kolon ve rektum kanserinin evrelenirilmesi (NCI Visuals Online'dan alınmıştır)

2.6. Kolorektal Kanserde Tarama Yöntemleri

Kolorektal kanser erken evrede teşhis edildiğinde büyük ölçüde tedavi edilebilir bir hastalıktır. KRK'de erken teşhis mortalite, morbiditede azalmasının yanı sıra tedavi maliyetlerini de düşürmektedir. KRK'i erken evrede teşhis etmenin yolu ise hastalığı asemptomatik evrede tarama programları ile yakalamaktır. KRK tarama önerisinde etkinlik, duyarlılık, yalancı pozitiflik, güvenirlilik, maliyet-etkinlik ve hastanın tercihi göz önünde bulundurulması gereken faktörlerdir.[59]

2.6.1. Guaiac Tabanlı GGK Testi

Non invaziv ucuz fakat düşük özgüllük ve duyarlılığa sahip yanlış pozitifliği çok olan bir testtir. Gaitadaki hemoglobin varlığı peroksidaz reaksiyonuyla ortaya çıkar.[60] Tek bir test KRK taramasında yeterli değildir.[61] Tarama her testte iki örneğin bulunduğu üç ardışık testle yapılmalıdır.[62] Guaiac tabanlı gaitada gizli kan testinin Hemokult, Hemokult 2, Hemokult SENSA ve Hemokult R gibi çeşitleri vardır. HS, KRK için Hemokult 2'den daha duyarlı ancak daha az özgüldür.[63] Hemokult SENSA'nın KRK'deki duyarlılığı, özgüllüğü sırasıyla %64-80 ve %87-90 iken Hemokult 2'nin duyarlılığı, özgüllüğü sırasıyla %25-38 ve %98-99'dur.[63] Toplum tabanlı taramalarda yüksek ve gereksiz kolonoskopi ihtiyacı gerektirmesinden ötürü önerilmemektedirler.[5] ***2008 yılında alınan kararla yüzde 50'nin altında duyarlılığa sahip bir testin tarama amaçla kullanılmasının uygun olmadığı belirtilmiştir.***[4] 30 yıllık takip çalışmaları sonucunda KRK mortalitesini %15-21 azalttığı tespit edilmiştir.[64,65]

2.6.2. Fekal İmmünokimyasal Testler

Yalnız insan hemoglobinini tespit ettiği için diğer GGK testlerine göre daha özgüldür.[66] Fekal immünokimyasal testin (FIT) duyarlılığı, örneğin işlenmesindeki gecikmeyle (hemoglobinin parçalanmasıyla) düşmektedir.[67] Bu testlerin pozitiflik oranları %5-7 arasında değişmektedir. İmmünokimyasal gayta test diğer GGK testlerine göre daha pahalıdır, fakat yanlış pozitiflik oranı daha az olduğu için daha az kolonoskopi gerektirmesinden dolayı maliyet etkinlikte diğerlerinin önüne geçmektedirler.[68]

2.6.3. Fekal DNA Testi

DNA gaita kitleri ticari olarak satılmaktadır ve bu kitler DNA paneli içermektedir. KRK ile ilişkili tüm genetik anormallikler DNA testine dahil edilemediği için yanlış negatifliği vardır. Tek bir testin KRK için duyarlılığı %62-100, yüksek derece adenom için %27-82, özgüllüğü de %82-100'dür.[69] Ortalama KRK riski altındaki 9.989 kişide yapılan çalışmada fekal DNA duyarlılığı %92.3, FIT duyarlılığı %73.8; özgüllükleri ise fekal DNA da %86.6, FIT de ise %94.9 olarak belirlenmiştir. Diğer gayta tabanlı testlere göre daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğü olmasına rağmen daha pahalı bir test olması nedeniyle yaygın kullanımı istenilen düzeylerde değildir.[70]

2.6.4. Çift Kontrast Baryumlu Enema (ÇKBE)

Radyolojik olarak bu tetkikle bağırsak mukozası baryumla sıvanır, rektal kateterle kolona hava verilir ve floroskopi altında çok sayıda grafi çekilir. Bağırsak hazırlığı prosedürü uygulanmalıdır. Sedasyona ihtiyaç duyulmaz. Hastalar işlem sırasında kramp tarzı karın ağrıları hissedebilirler, fakat işlem sonrasında işe dönebilmektedirler.[60] ÇKBE 1 cm'den büyük adenomların yarısını ve tüm poliplerin %39'unu saptayabilmektedir.[71] Anormal bulgu varlığında kolonoskopiyle biyopsi veya eksizyona gidilmelidir. Yalancı pozitiflik kalmış gaita içeriğinden, havadan veya diğer mukozal anormalliklerden kaynaklanabilmektedir. ÇKBE'nin avantajları arasında tüm kolonun muayene edilmesi ve komplikasyon açısından daha güvenli bir yöntem olması sayılabilir.[60] Ancak mevcut endoskopik ve tomografik tarama yöntemlerinden dolayı çok tercih edilmez.

2.6.5. Sigmoidoskopi

Sigmoidoskopide kısa bir segment görüntülenebilmektedir. 60 cm'lik fleksible sigmoidoskopi splenik fleksuraya ulaşabilmektedir. Sigmoidoskopide polip bulunması total kolonoskopi endikasyonu doğurmakta ve de bu nedenle yapılan kolonoskopilerde %20 oranında ek neoplastik polipler bulunabilmektedir. Sigmoidoskopi taramasının en önemli handikapı proksimalde tümörü olan vakaların atlanabilmesidir.[72] Hasta hazırlığı kolonoskopi ve sanal kolonoskopi için yapılanla kıyaslandığında daha kolaydır. İşlem sedasyon gerektirmeden yapılabilmektedir. En önemli komplikasyon perforasyondur. Sigmoidoskopideki perforasyon oranı %0.08'dir.[72] Küçük adenomlar sigmoidoskopide alınabilirken, 1 cm'den büyük adenomlar kolonoskopi endikasyonu doğurduğundan kolonoskopide alınırlar.[60] Teknik zorluklarla ilişkili olarak özellikle kadınlarda ve yaşlılarda sigmoidoskopinin yeterli seviyeye ulaşması mümkün olmayabilmektedir.[73]

2.6.6. Kolonoskopi

Kolonik mukozanın direkt görülmesi, biyopsi olanağı, polip ve lokal tümörlerin çıkarılmasına olanak sağlaması ile diğer testlere göre avantajlıdır. Kolonoskopi ile, sigmoidoskopi ile kaçırılabilecek proksimal lezyonlar yakalanabilmektedir.[74] Kolonoskopi ile taramanın sigmoidoskopi ile taramaya göre riski daha fazladır.[72] Perforasyon ve major kanama gibi major komplikasyonların oranı %0.1'dir.[75] Eşlik eden hastalıklar, artmış yaş, polipektomi ve az deneyimli endoskopist perforasyon riskini artırmaktadır.

Kolonoskopi tetkiki pahalı bir uygulamadır. Hastalara işlem sırasında sedasyon verilmektedir. Hasta kolonoskopi sonrası günlük aktivitelerine dönememekte, bir kişi eşliğinde eve gidişi sağlanmaktadır.[76] Yılda gerçekleştirilen işlemlerin sayısı, kaliteli ve güvenilir bir ölçü olmamasına rağmen becerilerin korunması ve etkili performansın izlenmesi esastır. Bu nedenle önerilen bir KRK tarama programına katılan her endoskopistin yılda en az 300 işlem gerçekleştirmesi Avrupa Birliği tarafından kalite standartı olarak belirlenmiştir. Ayrıca kolonoskopinin tamamlanmasının bir kanıtı olarak çekumun, apendiks orifisinin ve de ileoçekal valvin görülmesi, bunun entübe edilerek terminal ileumun görüntülenmesi, fotografik olarak kaydedilmesi önemli bir kalite kriteri olarak belirtilmiştir.[77]

2.6.7. Sanal Kolonoskopi

Sanal Kolonoskopide (SK) çok sayıda ince kesit tomografi çekimleri kullanılarak iki ve üç boyutlu görüntüler elde edilmektedir. SK için hastalar kolonoskopideki gibi bağırsak temizliği yapmaktadır. Bunun nedeni yanlış pozitifliklerin önüne geçebilmektir.[60] Hastalara işlem sırasında sedasyon verilmemektedir ve hastalar çıkışta işlerine dönebilmektedir. İntravenöz kateter işlem sırasında takılabilmektedir, bununla glukagon gibi bağırsağın düz kaslarını gevşeten ilaçlar verilebilmektedir. Rektuma yerleştirilen kataterle hava veya karbondioksit verilebilmektedir. Görüntüler nefes tutma sırasında alınmaktadır.[60] SK'deki uygulamalar içinde oral kontrast verilmesi, karbondioksitle bağırsağın açılması, multidedektör-ince kesitli BT tarayıcılar kullanılması, iki ve üç boyutlu polip araması yapılması sayılabilir. SK özel eğitimli kişilerce yorumlanmalıdır.[78]

Pozitif bulgular (polipektomi, patolojik tanı amaçlı biyopsi uygulaması) için kolonoskopiye; ekstra kolonik bulgular (abdominal aort anevrizması, vs.) için ileri tetkikler yapmaya yönlendirir.Yapılan çalışmalarda SK duyarlılığının yüzde 85, özgüllüğünün yüzde 88 olduğu belirtilmektedir.[60]

2.6.8. Kapsül Endoskopi

Bu testte bir kapsülün iki tarafına yerleştirilmiş iki ufak kamera bulunmaktadır. Bu kameralar kolonu geçerken görüntü almaktadır. Bu teknikte bağırsağın çok iyi temizlenmesi gerekmektedir. Herhangi bir pozitif bulgu durumunda biyopsi veya polip eksizyonu için kolonoskopi gerekmektedir.[79] Bir prospektif çalışmada bu yöntemin 6 mm üstü polipler için duyarlılığı %69, özgüllüğü %89 olarak gösterilmiştir.[79]

2.6.9. Septin 9

Septin 9, SEPT9 geni tarafından üretilen bir çeşit proteindir. Septin 9 geni (SEPT9), 17q25 bölgesinde lokalize bir gendir. 12 kodlanan egzon ve 586 amino asidi kodlar. Moleküler ağırlığı 65369 daltondur. Bu gen, septin ailesinin bir üyesidir, sitokinez ve hücre döngüsünün kontrolünde görevlidir. Septinler GTPazlar olarak hücre iskeletindeki mikrotubül ve aktinle etkileşir. Hücrenin kontrolsüz ve çabuk bölünmesinde bir çeşit tümör baskılayıcı olarak hareket eder. Hücre büyümesini düzenler veya çok hızlı kontrolsüz biçimde bölünen hücreleri tutar.[80] Eksprese olduğu dokular; beyin, kolon, kalp, böbrek, lökosit, karaciğer, over, pankreas, plasenta, prostat, iskelet kası, ince bağırsak, dalak ve testistir.

Septin 9'un kanser ilişkili ilk keşfi lösemide MLL geninin füzyon ürünü olaraktır.[81] Bulunduğu neoplazi tipine göre onkogen (prostat, meme, over kanseri) veya tümör supresör gen (baş-boyun kanserleri, KRK) olarak işlev görmektedir. Hücre DNA larındaki metilasyon profil değişikliği kanserleşme sürecindeki en erken görülen durumdur.[82] Metillenmiş DNA deriveleri sadece tümör dokusunda değil kan örneklerinde de bulunmaktadır. Sitozinin Urasile deaminasyonu sodyumbisülfit uygulamasına dayanır. Metillenmiş sitozin deaminasyona uğramayacaktır.[83] Metilasyon spesifik PCR denatüre edici yüksek performanslı sıvı kromatografi (MSP-DHPLC) tekniği kullanılarak SEPT9 geninin metilasyon durumu tespit edilmiştir.[84] 2008 yılında SEPT9'un KRK hastalarında metile SEPT9'a dönüşmesinden yola çıkılarak SEPT9 biyomarkır olarak kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmalar KRK'de tüm evrelerde ve tüm lokalizasyonlarda yüksek duyarlılık ve seçiçilik potansiyeli olduğunu göstermiştir.[17]

2.7. Kolorektal Kanserde Tarama Rehberleri

ABD'de 2001'de üzerinde görüş birliğine varılmış olan rehberdeki beş tarama yöntemini belirlenmiş olup bunlar; GGK testi, sigmoidoskopi, GGK ile sigmoidoskopi, çift kontrast baryumlu enema görüntüleme ve kolonoskopidir. 2008 yılında Amerikan Kanser Cemiyeti Amerika Birleşik Devletleri Dernekler Federasyonu Görev Gücü (ACS-MSTF) ve Amerikan Radyoloji Okulu (ACR)'nun rehberleri birleştirilerek yeni bir rehber yayınlanmıştır. Diğer 5 tarama yöntemine sanal kolonoskopi ve fekal DNA taraması da eklenmiştir.[4] Bu rehberle erken evre tanısı ile kanser önleme taramasının farklı olduğu vurgulanmıştır.

Avrupa Birliği (AB) tarafından önerilen primer tarama testi, endoskopik tarama yöntemlerin kullanımının artmasına rağmen 50-74 yaşları arasındaki erkek ve kadınlar için gaitada gizli kan testidir (GGK). AB kalite güvencesi rehberinin amacı; KRK tarama programlarının özellikle ortalama risk nüfus taraması için geliştirildiği ve yüksek riskli bireylerin yüksek riskli protokoller için sevk edilmesi gerekliliğini sağlamaktır.[85]

Amerikan Ulusal Kapsamli Kanser Ağı Önerisi (NCCN) bir panelle KRK tarama rehberlerini Ocak 2013'de düzenlemiştir.[86] Ulaşılabilir olma durumunda 10 yılda bir kolonoskopi veya yıllık GGK testi veya 5 yılda bir sigmoidoskopi ± yıllık GGK testi tarama önerileri arasındadır. Çift kontrastlı baryumlu kolon grafisi'nin sadece kolonoskopi yapılamadığında ve sanal kolonoskopi veya GGK ile tarama düşünülmediğinde yapılması önerilmiştir.[86] Ülkemizde tarama Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu bünyesindeki Kanser Dairesi Başkanlığı tarafından organize edilerek; iki yılda bir uygulanacak Gaitada Gizli Kan Testi (GGK) ve 10 yılda bir yapılacak kolonoskopi yöntemleri ile yapılmaktadır.[77]

2.8. Yeni Nesil Biyomarkırlar

Yeni nesil biyomarkırlar ile hastalıksız yaşam süresi ve yaşam kalitesi arttırabilir. Biyomarkırlar kan tabanlı ya da dışkı tabanlı olabilir. Biyomarkırlarda aranan özellikler işaretleyicilerin belirli konsantrasyonlarda istikrarlı olması, stabilizasyonunun, aktarılmasının ve depolanmasının rahat olmasıdır. Ucuz ve tekrar edilebilir olması tarama amaçlı kullanımda önem taşımaktadır. Minimal

invaziv olması ve hastanın uyum sağlaması gerekmektedir. Örneğin dışkıdaki aranan DNA parçasının sadece %0.01'i konak kökenli olup, geri kalan %99.99 bakteri ve diyet kaynaklıdır. Araştırmalar sırasında ölçülebilir konsantrasyonlara ulaşmak gerekmektedir. Yüksek teknolojide elde edilen mikrodiziler ve nanoteknolojilerle yeni nesil DNA sıralamasında yüksek verimli sonuçlar elde edilmektedir.[87] İngiltere'de biyomarker keşif ve geliştirme komitesi bunları alt gruplara ayırmıştır.[88]

1. Yatkınlık ve risk değerlendirmek amacıyla kullanılanlar; Birey ve populasyon tanımlamak, bir hastalığa yakalanma riski ve genetik yatkınlıklığını belirlemek için kullanılan biyomarkerlardır. Örneğin APC gen mutasyonu, FAP hastalığına işaret eder.
2. Tarama ve erken tanı amacıyla yapılanlar; GGK taraması ve SEPT9 bu gruba dahil olmaktadır.
3. Tanı amaçlı olanlar genelde bir görüntüleme yöntemiyle birlikte kullanılırlar; PSA, CEA, CA 125 bu gruba dahil olmaktadır.
4. Farmakolojik olan biyomarkerlar ise ilaç tedavi etkinliğini ölçmek, biyolojik doz optimizasyonu ve yan etkilerin azaltılması amacıyla kullanılanlardır. Örneğin Chron hastalığında TMPT (Tiopurin metil transferaz) geni ve Azatiyopurin tedavisi.
5. Akıllı ve öngörü sunan biyomarkerlara örnek; metastatik kolorektal kanserlerde KRAS biyomarkerı ile EGFR terapisinde kullanılması.
6. Prognostik biyomarkerlarda muhtemel hastalık seyrini göstermektedir. CEAnın tümör çıkarılmasını takiben düşmesi ya da takiplerde

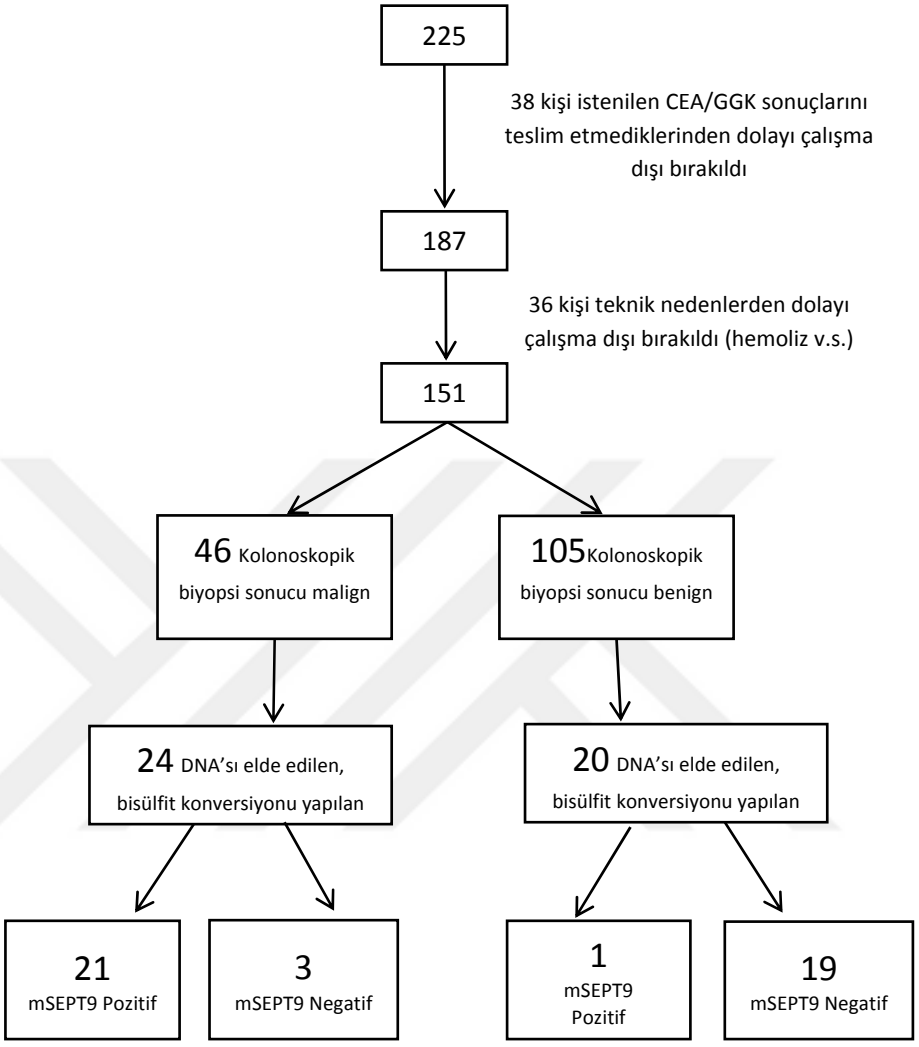
yükselmesi ile tümörün tekrarladığı ya da metastaz konusunda uyardığının bilinmesi bu guruba girmektedir.

Tarama yöntemlerinin çeşitliliğindeki temel hedef uygulanabilirliğinin arttırılması ile daha geniş kitlelere ulaşılması olmuştur. Bizim çalışmamızdaki amacımız; kandan alınan Septin 9 bakılmasının gaitada gizli kan ve karsinoembryojenik antijen ile güvenilirliğinin ve özgüllüğünün karşılaştırılmasıdır. Bu sayede hasta uyumu rahat, koldan alınan kan ile kolay ulaşılabilen, yüksek duyarlılık ve özgüllüğü sahip, pratik ve rutin uygulamaya sokulabilecek bir biyomarker tarama metodu olarak güvenle kullanılabilecektir.

3. HASTALAR VE YÖNTEM

Metodolojik olarak yaptığımız çalışmamıza Mayıs 2014 ile Kasım 2014 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Endoskopi ünitesine rutin 50 yaş sonrası tarama amaçlı gelen, rektal kanama şikayeti olan ve malignite şüphesi olan hastalar dahil edildi. 18 yaşından küçük, hamilelik durumu olan ve hikayesinde kolon cerrahi öyküsü olan hastalar çalışma dışında bırakıldı. Çalışmaya dahil edilen 225 hastadan ayrıntılı tıbbi öykü alınarak fizik muayenesi sonrası detaylı görüşmeler yapıldıktan sonra bilgilendirilmiş gönüllü olur formu verilerek çalışmaya dahil olma rızası alındı. Demografik özellikleri, bakılacak parametreler önceden hazırlanmış standart formlara kaydedildi. Hastaların tamamına kolonoskopi prosedürü uygulandı. Şüpheli lezyonların lokalizasyonları kaydedilerek biyopsi ile örneklenme alındı.Kolonoskopisi normal olan kontrol grubu ile patoloji sonucu malign olan hasta grubunun demografik verileri, SEPT-9 düzeyleri, gaytada gizli kan sonuçları ve CEA sonuçları ile irdelendi.

Çalışma süresince çalışmaya dahil edilen 225 hastanın 38'i CEA ve GGK örneğini teslim etmediği için, 36'sı ise teknik nedenlerden (hemolizli numune, vs.) dolayı çalışma dışı bırakıldı. Yüz elli bir hastadan kolonoskopisi normal olan 105 hasta kontrol grubu ve kanser saptanan 46 hasta kolorektal kanser grubu olarak değerlendirildi. DNA'sı izole edilebilen 20 kontrol ve 24 kolorektal kanser grubunun veri analizi yapıldı (Şekil 4).



Şekil 4. Çalışmanın Dizaynı

3.1. Septin 9

3.1.1.Örneklerin Toplanması

Çalışma için hasta ve kontrol gruplarında yer alan her bireyden 2 adet 10 ml'lik tam kan örneği alındı. Bu örnekler oda ısısında bekletilerek 3 ml plazma toplandı. Plazmalar 1.7 ml.'lik ependorf tüplere ayrıştırılarak çalışma zamanına kadar -800^{0}C'de saklandı.

3.1.2. DNA İzolasyonu

Örneklerden DNA izolasyonu için alkali fenol-kloroform yöntemi kullanıldı. Bu amaçla her bir örnek 250mL'lik 6-8 ependorf tüp'e alınarak üzerlerine 12ML pronaseE (72 mg/ml, SERVA, Germany) + 250 mm K buffer ilave edilerek 47^0C'de 2 saat inkübe edildi. Buradan alınan örneklerin üzerine 500mm alkali fenol-kloroform eklendi ve vortekslendi. Karışım 12.000 rpm'de 10 dk $+8^0$C'de santrifüjlendi. Santrifüj sonrası tüplerin üst kısmını oluşturan şeffaf faz yeni bir ependorf tüp'e alınarak üzerlerine 700ML isopropil alkol (Merk, Germany) eklendi, vortekslendi ve 12.000 rpm'de 10 dk $+8^0$C'de santrifüjlendi. Santrifüj sonrası süpernatant döküldü ve ependorf tüp'e 300 mmm %75 etil alkol eklenerek vortekslendi ve 12.000 rpm'de 6 dk $+8^0$C'de santrifüjlendi. Santrifüj sonrası süpernatant döküldü ve ependorf tüpler 37^0C'de 10-15 dk bekletilerek kurutuldu. Daha sonra aynı örneğin 8 ependorf tüpünün sadece ilk ependorf tüpüne 30 mmm DNA'az RNA'az içermeyen distile su eklendi ve DNA çözündürüldü. Bu tüp içindeki 30 mm DNA içeren örnek sırasıyla diğer 7 ependorf tüp'e aynı şekilde aktarılarak 1.5-2.0 ml'lik plazma örneği 30 mmm'ye konsantre edilmiş oldu. Bu örnekler PCR testleri yapılıncaya kadar -80^0C'de saklandı.

3.1.3. Primer Dizaynı

PCR testleri için aşağıda DNA dizisi verilen SEPT9 genine ait metilasyon için önemli olan hedef gen bölgesinin normal, yani metilasyondan bağımsız olarak çoğaltılmasını sağlayacak primer dizisi dizileri tespit edildi.

NORMALDİZİP1 CCATCATGTCGGACCCCGCG

NORMALDİZİP2 TCCTCTCCAGCACGTCCGCG

AGGGCCCGGGCCCCGCCGGGGGCGCTTCCTCGCCGCTGCCCTCCGCGC
GACCCGCTGCCCACCAG**ccatcatgtcggaccccgcg**GTCAACGCGCAGCTGGAT
GGGATCATTTCGGACTTCGAAGGTGGGTGCTGGGCTGGCTGCTGCGGC
cgcggacgtgctggagaggaCCCTGCGGGTGGGCCTGGCGCGGGACGGGGGTGC
GCTGAGGGGAGACGGGAGTGCG

PCR testleri için aşağıda DNA dizisi verilen SEPT9 genine ait metilasyon için önemli olan hedef gen bölgesinin metilasyon spesifik çoğaltılmasını sağlayacak primer dizisi dizileri tespit edildi.

MET99P1 CGAAAACGCTTCCTCGCCGCTAC

MET99P2 CGTTCGCGGTCGTAGTAGTTAGTTTAG

CGCGCAAAACCCGAACCCCGC**cgaaaacgcttcctcgccgctac**CCTCCGCGCGAC
CCGCTACCCACCAACCATCATATCGAACCCCGCGATCAACGCGCAACT
AAATAAAATCATTTCGAACTTCGAAAATAAATA**ctaaactaactactacgaccgcg**
aacgTACTAAAAAAAACCCTACGAATAAACCTAACGCGAAACGAAAAT
ACGCTAAAAAAAAACGAAAATACG

3.1.4.DNA Bisülfit Çevirimi

İzole edilen DNA örneklerinin NNCGNN dinükleotidlerinde bulunan C nükleotidinin metilasyona uğrayıp uğramadığını anlamak amacıyla yapılan bu işlem için Epigentek (USA) firmasına ait "BisulFlash™DNA Modification Kit" isimli bisüfit çevirim kiti kullanılmıştır. Yapılan işlemler kit prospektüsü doğrultusunda uygulanmıştır. Reaksiyon temel olarak C nükleotidini eğer metilasyona uğramamış ise bisülfit uygulaması ile U nükleotidine dönüşümünü sağlamaktadır. Böylece daha sonra yapılacak metilasyona özgü PCR testlerinde dizayn edilecek primerler aracılığı ile metilasyon varlığı test edilecektir.

3.1.5. PCR Testleri

PCR testleri 2 farklı grupta ve Applied Biosystem 7500 (ABI, USA) cihazında yapıldı. Bu Gruplar;

Grup1: 25 µl hacimde ve tüm örneklerde izole edilmiş DNA örnekleri kullanılarak önce normal dizi primerleri ile aşağıdaki termal döngü izlenerek gerçekleştirilen testler. Bu testler için standart reaksiyon içeriğine 0.6 µl 3.nesil florojenik bir boya olan EvaGreen ilave edilerek PCR sonrası Melting Curve analiz işlemine geçilmiştir.

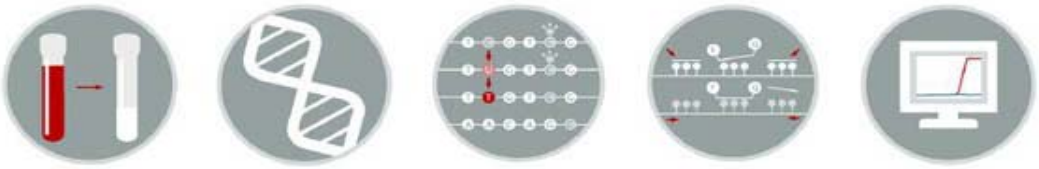
95^0C	Ön denatürasyon ve hotstart taqDNA pol enzim aktivasyonu	
95^0C	Denatürasyon	} 40 Siklus
60^0C	Annealing ve zincir uzaması	

Grup2: 25 µl hacimde ve tüm örneklerde izole edilmiş DNA örneklerine bisülfit çevirim işlemi uygulandıktan sonra elde edilmiş formuna MET99 primerleri kullanılarak aynı termal döngü izlenerek gerçekleştirilen testler. Bu testler için standart reaksiyon içeriğine 0.6 µl üçüncü nesil florojenik bir boya olan EvaGreen ilave edilerek PCR sonrası Melting Curve analiz işlemine geçilmiştir.

3.1.6. Melting Curve Analizi

Grup1 ve grup2 PCR testleri Applied Biosystem 7500 Fast (ABI, USA) cihazında tamamlandıktan sonra aynı cihazın yazılımında bulunan melting curve analiz programı ile örneklerin melting analizleri yapılmıştır. Bu analizler cihazın Filter1 filtresi, 79-95 ^{0}C aralığı ve %2 ısı artış opsiyonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Alınan kanların PCR da veri analizine kadar süren yolculuğu Şekil 5 de özetlenmiştir.



Kan Plazması DNA İzolasyonu Bisülfit Dönüşümü Gerçekzamanlı PCR Veri Analizi

Şekil 5. Çalışma Özeti

3.2. Gaytada gizli kan

Barsak hazırlığından en az iki gün önce gaitada gizli kan bakılmak üzere bir kez gayta örneklenmesi alındı. Gaytada 0.6mg Hg/gm kan saptanması durumunda test pozitif olarak kabul edildi.

3.3.Karsinoembryojenik antijen

Barsak hazırlığından en az iki gün önce kanda CEA seviyesine bakıldı. CEA seviyesinin 5ng/ml'nin üzerinde artış göstermesi patolojik olarak değerlendirildi.

Bu çalışmanın etik onayı 26.02.2014 tarihinde Keçiören Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan S03 karar numarası ile alınmıştır. Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Arastırma Projeleri Birimi tarafından SBE-01/2014-26 proje numarası ile desteklenmistir.

3.4. İstatiksel Yöntemler

Araştırmada istatistiksel analizler için SPSS® 15.0 for Windows, istatistik programı kullanıldı (SPSS Inc., Chicago, IL). Tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma) yanısıra nitel verilerin karşılaştırılmalarında Pearson's ki-kare testi, Fisher's exact test kullanılmıştır. Sonuçlar mean±standart deviasyon (SD) olarak verilmiştir. $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil olan hastaların kolonoskopisi normal saptanan grup kontrol grubu (20 hasta), kanser saptanan grup kolorektal kanser grubu (24 hasta) olarak değerlendirildi.

Kontrol grubunun yaş ortalaması 57.05±2.56 (38-79) yıl olarak belirlendi. Hastaların 13'ü (%65) erkekdi. Kolorektal kanser grubunun yaş ortalaması 57.91±1.45 (21-84) yıl olarak belirlendi. Hastaların 14'ü kadındı (%58.4). Kolonoskopi tümör lokalizasyonu 7 hastada (%29.1) rektum, 7 hastada (%29.1) sigmoid kolon, 5 hastada (%20.8) sol kolon, 3 hastada (%12.5) sağ kolon, 1 hastada (%4.1) çekum ve 1 hastada (%4.1) transvers kolon olarak tespit edildi Kolorektal kanser saptanan 24 hastanın cerrahi sonrası patoloji raporunda invazyon derinliği 2 hastada (%8.4) da pT1, 6 hastada (%25) pT2,10 hastada (%41.6) pT3 ve 6 hastada (%25) pT4 olarak saptandı.

Septin 9 metilasyonu kontrol grubunda %5 (1/20), kolorektal kanser grubunda %87.5 (21/24) olarak bulundu. Kolorektal kanser grubunda 3 hastada Septin 9 metilasyonunun saptanamamasının nedeni teknik sebeple ortaya çıkmıştır. Bu 3 hastalar bisülfit çevirim reaksiyonuna sokulmadan önce SEPT9 gen bölgesi PCR testinde pozitif olarak bulunmuştur. Ancak plazmada SEPT9 gen bölgesi PCR test pozitifliği sadece kolon epitelyum hücrelerini değil organizmada mevcut farklı doku ve organlardan gelmektedir. Bu nedenle gerçekte bulunan SEPT9 gen bölgesi PCR test pozitifliği genel bir sonucu yansıtmakta ve kolon epitelinden özgül olarak SEPT9 gen bölgesini yansıtmamaktadır. Bu durum testin

prosedüründe yer alan Metilasyon analizinde kolon epitelinden gelen metile SEPT9 gen bölgesi yerine diğer dokulardan gelen ve metile olmayan SEPT9 gen bölgesinin analiz edilmesine sebep olmaktadır. Böylece gerçekte incelenmesi gereken DNA'ya hasta plazma örneklerinin volum olarak azlığı nedeniyle ulaşılamamış ve hastalar yalancı negatif (-) olarak Normal şeklinde rapor edilmiştir. Bu test sistemi ile ilgili olarak karşılaşılan en önemli sorun bu nokta olarak değerlendirilmektedir. Yani real time PCR test işlemlerine başlarken ilk olarak kolon epitel DNA'sının gelmesinin sağlanması gerekmektedir. Bunun için bizim önerimiz DNA elde edilme işlemlerine en az 6 ml olacak biçimde hasta plazmasının laboratuara gönderilmesidir.

Kolorektal kanser için Septin 9'un spesifisitesi ve sensitivitesi sırasıyla %87.5, %95 olarak tespit edildi.

Gaytada gizli kan kontrol grubunda %30 (6/20), kolorektal kanser grubunda %54.2 (13/24) pozitif olarak tespit edildi. Kolorektal kanserler için GGK spesifisitesi ve sensitivitesi sırasıyla %54.1, %70 olarak bulundu.

CEA seviyelerine bakıldığında kontrol grubunda %5 (1/20), kolorektal kanser grubunda %41.6 (10/24) oranında 5ng/ml'nin üzerinde olduğu izlendi. Kolorektal kanserler için CEA'nın spesifisitesi ve sensitivitesi sırasıyla %41.7, %95 olarak bulundu.

Bulgular Tablo 1'de özetlenmiştir.

Yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri değerlendirildiğinde CEA'nin duyarlılığı %41.7; özgüllüğü %95 (p=0.006); GGK'nın duyarlılığı %54.1,

özgüllüğü %70 (p=0.135); SEPT9'un duyarlılığı %87.5, özgüllüğü %95 olarak saptanmıştır (p<0.0001) (Tablo 2). Septin 9'un kolorektal kanserleri tespit etmede duyarlılık ve özgüllüğü gerek gaytada gizli kan testine gerekse de karsinoembryojenik antijen değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 1. Kolonoskopik biyopsi sonucuna göre hasta sonuçları

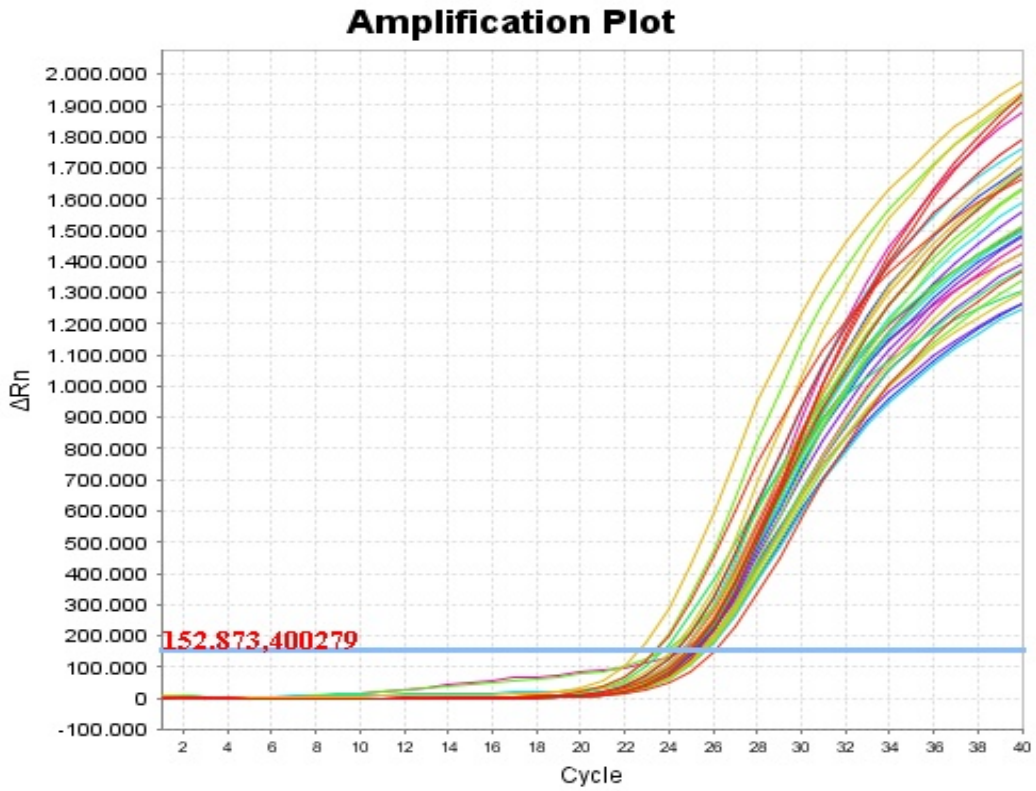
	Kolonoskopik Biyopsi Malign	Kolonoskopik Biyopsi Benign	Toplam
Yaş	57.91±1.45 (21-84)	57.05±2.56 (38-79)	
Cinsiyet			
Erkek	10	13	23
Kadın	14	7	21
pT			
1	2		
2	6		
3	10		
4	6		
Lokalizasyon			
Çekum	1		
Sağ Kolon	3		
Transvers Kolon	1		
Sol Kolon	5		
Sigmoid Kolon	7		
Rektum	7		
CEA			
Pozitif	10	1	11
Negatif	14	19	33
GGK			
Pozitif	13	6	19
Negatif	11	14	25

Tablo 2. SEPT9'un CEA ve GGK ile karşılaştırılması

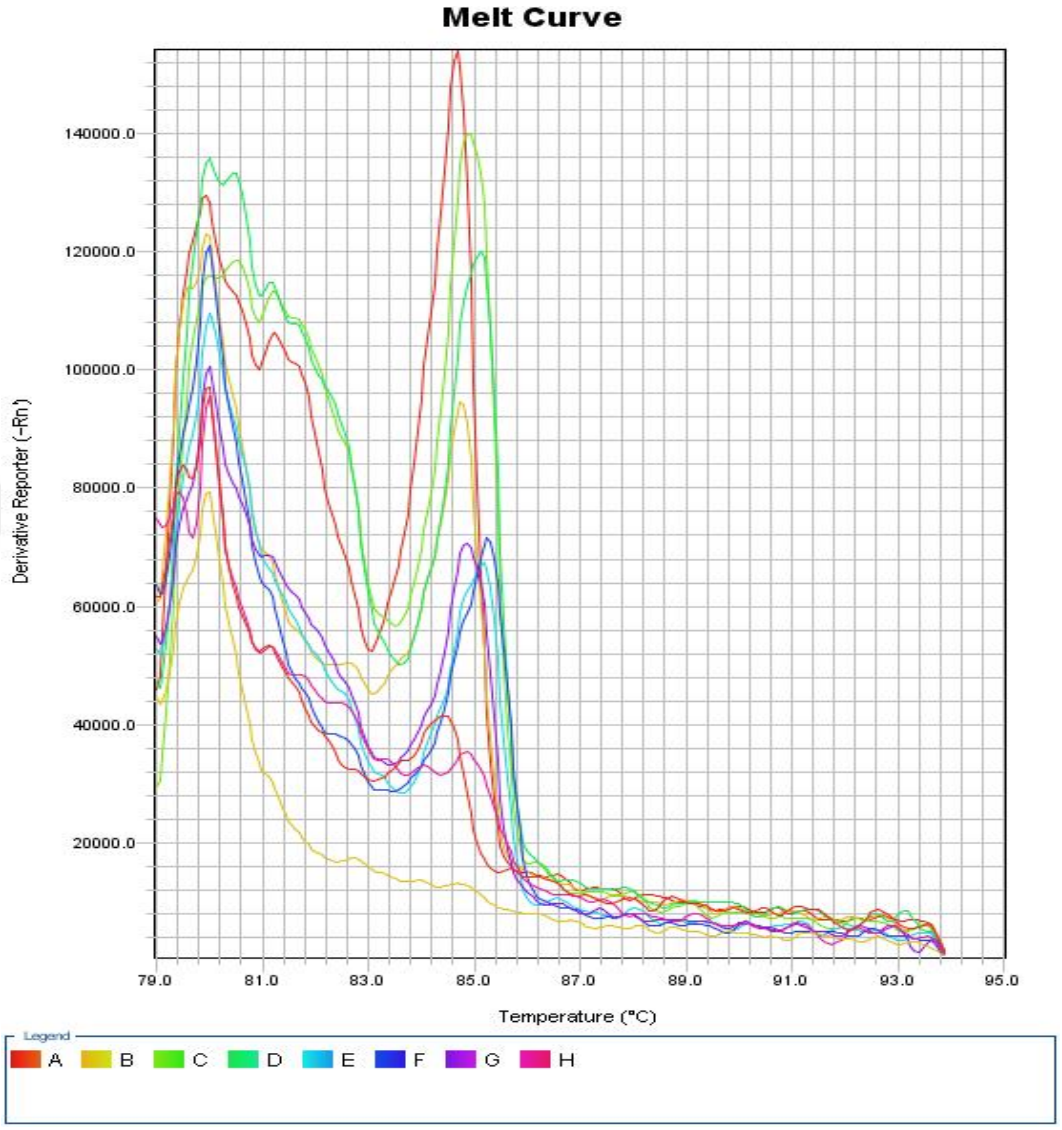
	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	p değer*
mSEPT9	87.50	95	0.0001
CEA	41.70	95	0.0060
GGK	54.16	70	0.1350

*Fischer exact test

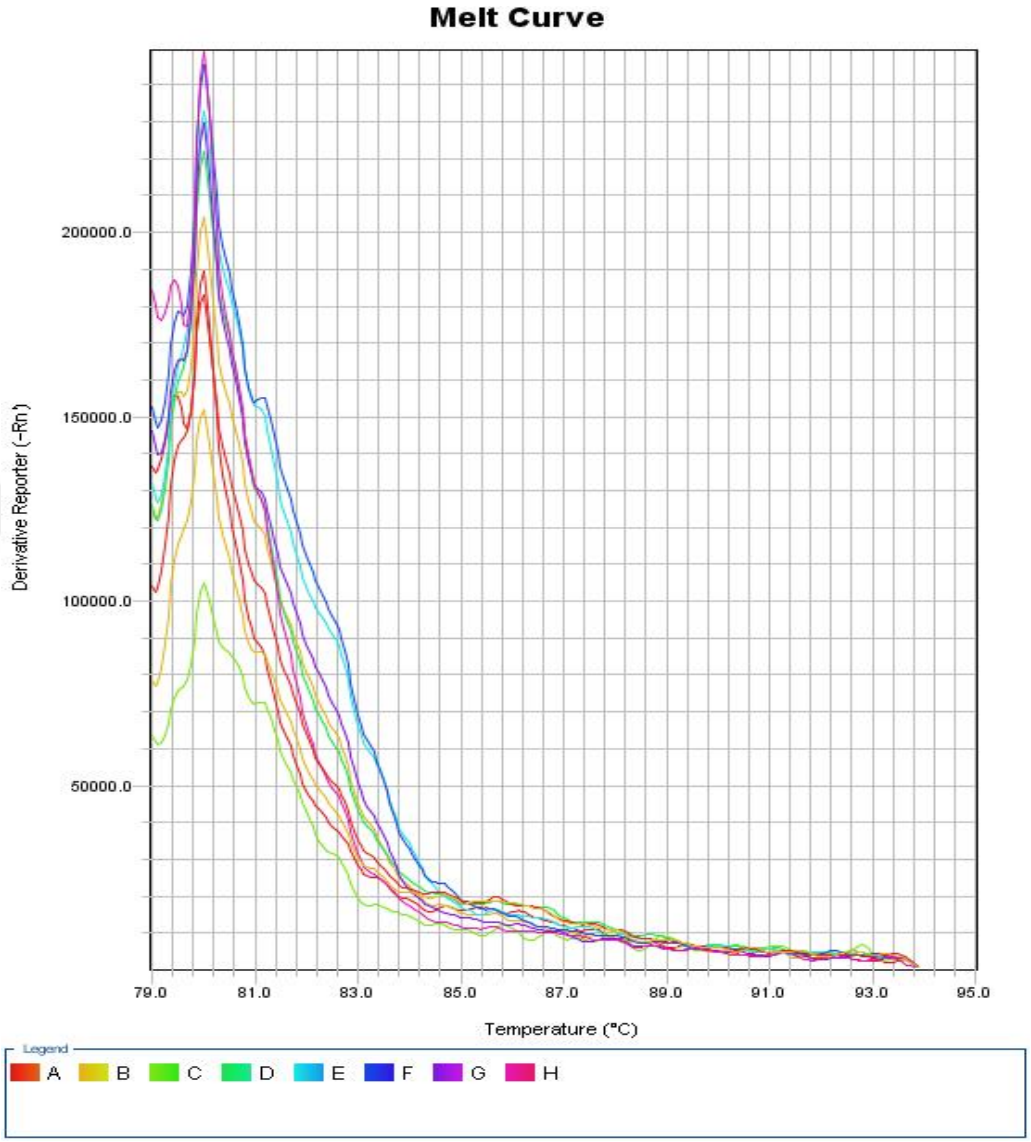
PCR değerlendirilmelerinin sonuçları Şekil 6-10'da grafiksel olarak özetlenmiştir.



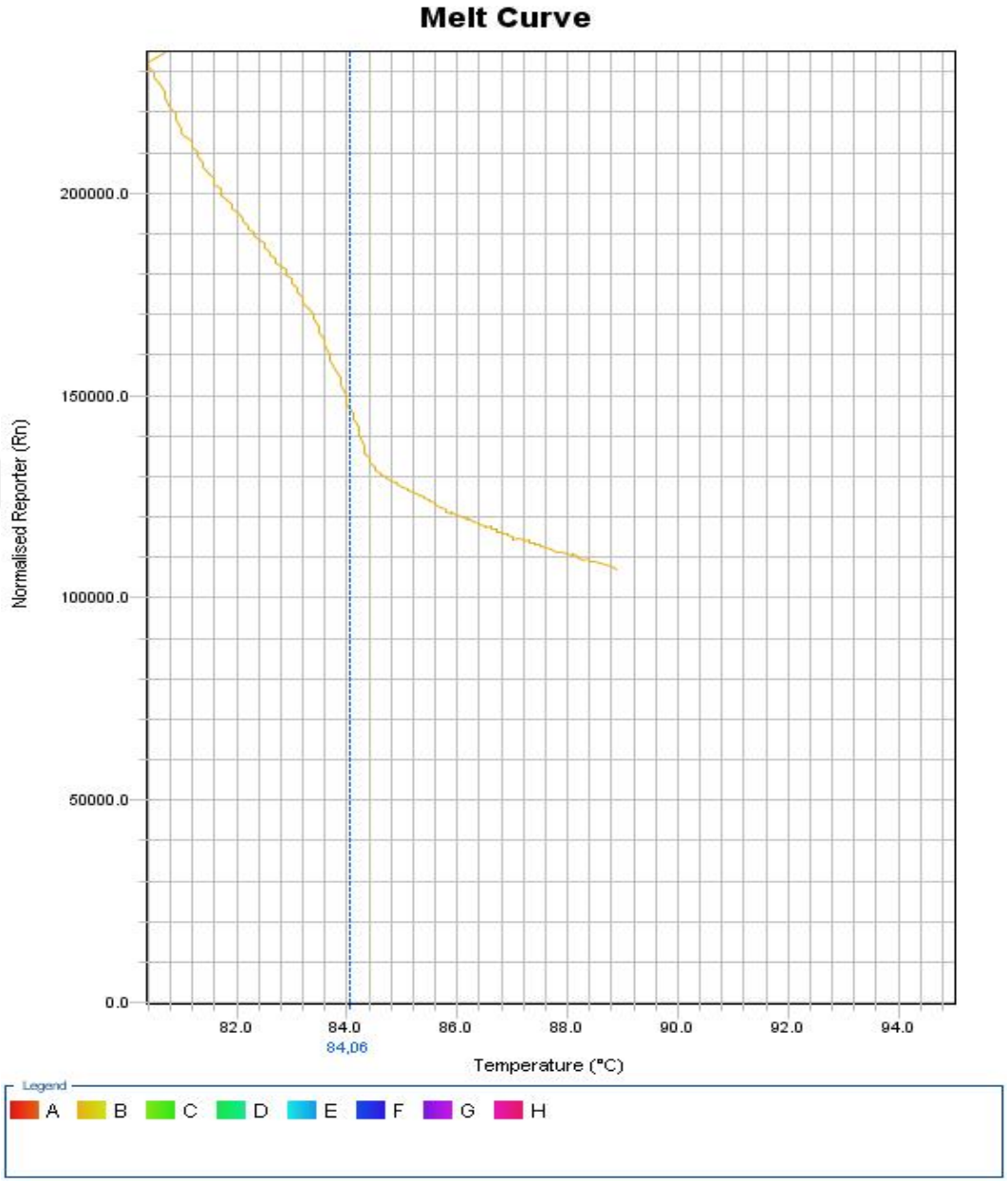
Şekil 6. Hasta ve Kontrol örneklerinin EvaGreen floresan boya kullanılarak yapılan Real time PCR testlerini gösteren lineer amplifikasyon eğrileri. C_t değerlerinin >30 olduğu görülmektedir



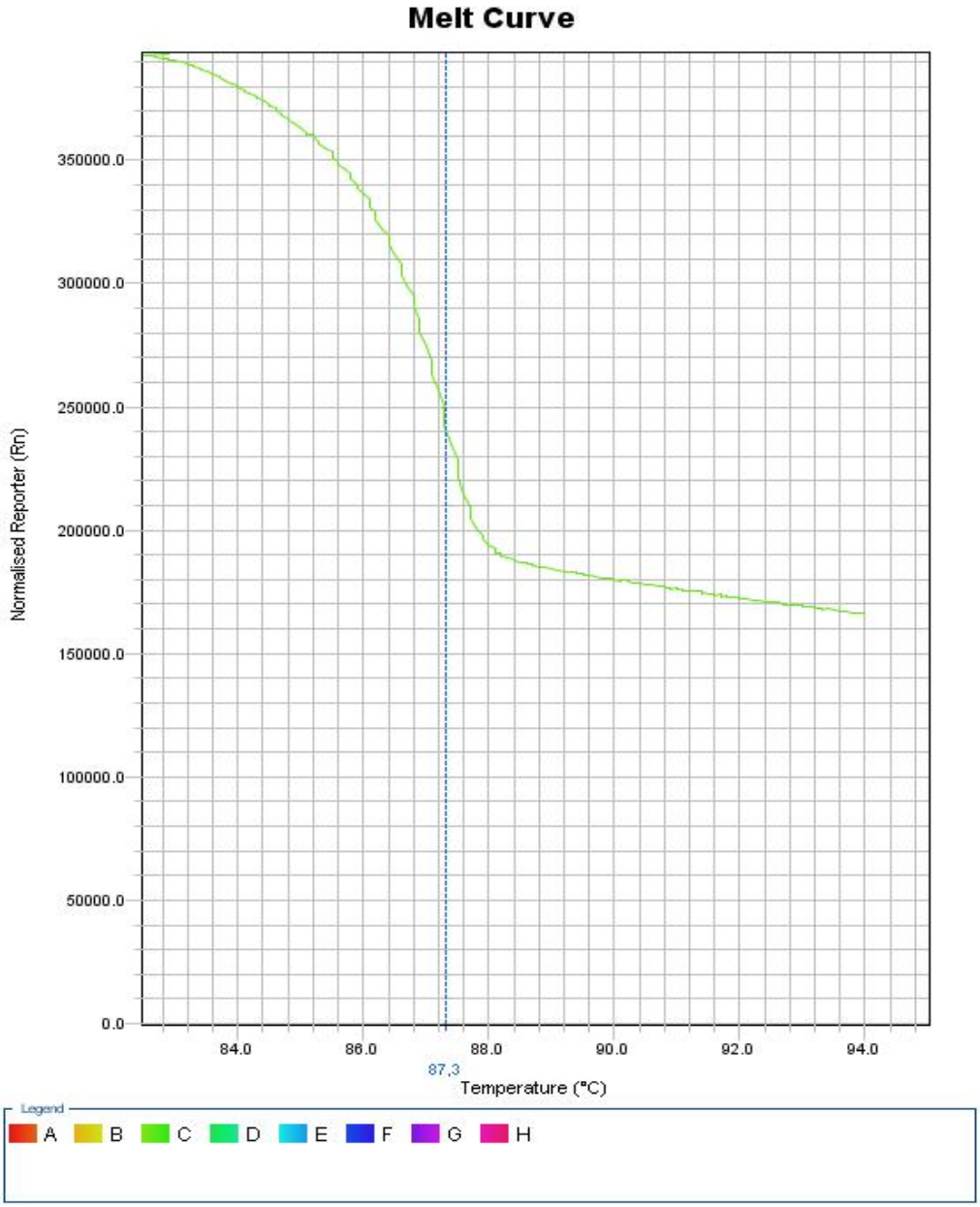
Şekil 7. Kolon kanserli hastaların DNA örneklerinin bisülfit reaksiyonu sonucu C (Sitozin) nükleotidinin metile olması sonucu, U/T (Urasil/Timin) nükleotidine çevrilememesi sonucu elde edilen Melting Curve pikleri



Şekil 8. Kolon kanseri olmayan hastaların DNA örneklerinin bisülfit reaksiyonu sonucu C (Sitozin) nükleotidinin metile olmaması sonucu, bu C (Sitozin) nükleotidinin U/T (Urasil/Timin) nükleotidine çevrilmesi sonucu elde edilen Melting Curve piklerinin oluşmaması. C (Sitozin) nükleotidinin U/T (Urasil/Timin) nükleotidine çevrilmesi işlemi ile spesifik metilasyon primerlerinin hedef DNA'yı amplifiye edemediğini göstermektedir.



Şekil 9. Kolon kanserli hastaların DNA örneklerinin bisülfit reaksiyonu sonucu spesifik primerler ile çoğaltılması ve melting curve analizlerinin yapılmasını takiben elde edilen özgül melting ısısını göstermektedir.



Şekil 10. Kolon kanseri olmayan hastaların DNA örneklerinin bisülfit reaksiyonuna sokulmadan önce spesifik primerler ile çoğaltılması ve melting curve analizlerinin yapılmasını takiben elde edilen özgül melting ısısını göstermektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

KRK gelişmiş ülkelerde en yaygın kanserlerden biridir ve insidansı giderek yükselmektedir.[89] Kansere bağlı ölümlerin nedeninde ikinci sırada yer almakta olup, kanser ölümlerinin %9'unu, tüm ölümlerin ise %3'ünü oluşturmaktadır.[19] Prekanseröz poliplerin erken dönemde tespit edilmesi ve de çıkarılması kansere dönüşmeyi önleyebilmektedir. Bu nedenle pekçok tarama yöntemi prekanseröz polipleri ya da erken dönemde kolon ve rektum kanserlerini tespit edebilmek amacıyla geliştirilmiştir. Bu markırların klinik kullanımlarının artması ile KRK'lerde yaşam süresinde artışa ve hayat kalitesinde iyileşmelere katkı sağlayacaktır.[87] Kolonoskopi gibi duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça yüksek tarama metodları invaziv ve hasta uyumu düşük tarama yöntemleriyken gaitada gizli kan, karsinoemryojenik antijen gibi yöntemler daha az invaziv ve hasta tarafından tolere edilebilen, uyum sağlanan yöntemlerdir. Bunalrın handikapı ise speisifite ve sensitivitesinin düşük olmasıdır.[94] Moleküler teknolojideki ilerlemeler, mutasyon analizleri ve genom haritalaması KRK açısından bir dizi biyomarker (tanısal, farmakolojik, prediktif ve prognostik) keşfine neden olmuştur.[88] 2006 yılında İngiltere'de ve Avrupa Konsey kararında önerilen KRK tarama metodu dışkı tabanlı çalışmalarının uyumun düşük olması yeni jenerasyon kan tabanlı biyomarkerlara ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir.[91] Buradan yola çıkılarak kolon kanser hastaların plazma DNAsında Septin 9 metilasyonunun tespiti 2011 yılında New York State Health bölümünde onaylanmış ve büyük

yankı uyandırmıştır. Kanda Septin 9 metilasyonu bakılarak tarama yöntemi olarak kullanılması ile ilgili çalışmalar yapılmıştır.[93]

Bizim çalışmamızda gaitada gizli kan ve serum CEA değerleri ile kanda kolorektal kanser biyomarkırı olan metile septin 9'un spesifite ve sensitivitesinin karşılaştırılması amaçlandı. Gaitada gizli kan hem kontrol ve hem de kanser grubunda bakıldı. GGK testinin sensitivitesi daha önceki çalışmalarda %30-40 olarak saptanmış, ancak test programlarının tekrar edilmesi arttıkça sensitivitesi %80-92'lere çıkmaktadır.[65] Bir sistematik derlemede özel diyet uygulanmasının yanlış pozitif sonuç oranını azaltmadığı aksine hastaların tarama testine uyumunu azalttığı bildirilmiştir.[66] Benzer şekilde test öncesi hidrasyon sağlanması, demir preparatlarının kesilmesi de testi olumsuz etkilememektedir.[67] Biz de hastalara özel diyet uygulamadan kolonoskopi işleminden en az iki gün önce gaita testi uyguladık. %30 oranında yanlış pozitiflik saptadık. GGK testinin sensitivitesinin çalışmamızda kolorektal kanser için düşük olarak saptadık. Literatürde de GGK kolorektal kanser tarama programlarında kullanılmasına rağmen gastrointestinal sistemin kanamalarında spesifik olmadığı ve de sensitivitesinin düşük olduğu bildirilmiştir. Bunun yanında bu tarama yöntemi sayesinde kolon ve rektum kanseri insidansında ve mortalitesinde %15-33 oranında azalma gösterilmiştir. Araştırmamızda yalancı pozitif saptanan kontrol grubundaki 6 hastada kolonoskopi sonucunda neoplazi ya da polip saptanmadı. Yalancı pozitifliğin nedeni olarak hemoroidal hastalık, kolonik inflamasyon ya da diyet spekülasyon edilebilmektedir. Kandan bakılan Septin 9 değerleri ile GGK testi ile karşılaştırıldığında Septin 9'un kolorektal kanserleri tespit etmede spesifisitesi ve

sensitivitesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır (sırasıyla; %87.5, %95). Bu da Septin 9'un tarama yöntemi olarak kullanılabilmesi açısından cesaret verici bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

CEA sıklıkla tümör markırı olarak tümör cerrahisi sonrası lokorejyonel nüks ya da metastazların varlığının irdelenmesi amacıyla kullanılan bir kas testi olarak bilinmektedir. Bu nedenle tarama testi olarak kullanılmamaktadır. Kolorektal kanser tespitinde CEA yüksekliğinin spesifitesi %85.2 iken sensitivitesi %51.8 olarak bildirilmektedir.[94] Düşük sensitivite değerleri de bu testin tümör monitorizasyonu açısından önemini ortaya çıkarmaktadır. Kolorektal kanser grubunda CEA yüksekliği 10/24 hastada bulunurken bu grupta Septin 9 1/20sinde pozitif olarak tespit edildi. CEA'nın kolorektal kanserler için spesifisitesini ve sensitivitesini sırasıyla %41.7 ve %95 olarak tespit ettik. Septin 9 ile karşılaştırıldığında hem spesifitenin hem de sensitivitenin CEA da belirgin olarak düşük olduğu gözlemlendi (p=0.006). Bu da CEA'nın kolon ve rektum kanserlerinde tarama yöntemi olarak güvenilir bir test olmadığını göstermiştir.

SEPT9 sağ ve sol kolon kanserlerinin tümörgenezislerindeki metilasyon değişikliklerinden kaynaklanan farklılıklara rağmen lokalizasyonundan bağımsız sensitiviteye sahip, kana dayalı, minimal invaziv KRK spesifik bir tarama testi geliştirilmesi klinik açıdan büyük öneme sahiptir.[95]

Yapılan çalışmalarda SEPT9 DNA metilasyon profile epitelyal ve stromal hücrelerde; sağlıklı ve hasta bireylerde incelenmiş. SEPT9 DNA metilasyon değişikliği sadece SEPT9 CpG adasında ve sadece heterojen kolorektal doku

örnekleri incelenmiş. Analiz edilen dokularda SEPT9'un normal dokularda metile olmadığı ancak CpG adacığında metilasyon olduğu tespit edilmiş olup adenoma karsinom gelişiminde erken bir gösterge olarak kabul edilmektedir.[96] Gelişen teknoloji ve PCR uygulamaları materyal çoğaltımını ve saptanmasını kolaylaştırmış duyarlılık oranı kolonoskopiye benzer olarak yükselmiştir. Bağırsak hazırlama prosedürleri, sedasyon, uzmanlık gerektirmesi ve yaşanabilecek komplikasyonlar kolonoskopini limitasyonlarıdır. Ancak kan bazlı SEPT9 metile DNA yönteminin kolonoskopiye kıyasla dezavantajı ise küratif özelliğinin olmaması ve adenoma tespitinde beklenen etkiyi gösterememesidir. Özellikle prosedür ve invazyonu nedeniyle kolonoskopi istemeyen veya yapılamayan orta dereceli risk grubuna önerilebilecek kolay uygulanabilir noninvaziv bir test olarak değerlendirilmiştir.[93]

Prostat kanserindeki görüntülemeyle beraber PSA testinin rutinde kullanıldığı gibi KRK görüntüleme yöntemiyle beraber kan testi kullanım gerekliliği belirtiliyor. Kolonoskopiyi takiben yapılan kolay yapılan,kolay yönetilen ve KRK erken tanısını koymada yardımcı olan bu gibi kana dayalı testler bu hastalıktan doğan mortaliteyi azaltmada çok efektif potansiyele sahiptir.[97] Bizim çalışmamızda da literatür bulgularıyla uyumlu sonuçlar elde ettik. Bu tez çalışması ile ülkemizde ilk defa KRK hastalarında SEPT9 gen metilasyon çalışması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar SEPT9 gen metilasyon sonuçlarının gerek CEA ve gerekse GGK göre daha yüksek sensitivite ve spesifite değerlerine sahip olduğu da gösterilmiştir (Tablo 2). Bu tez çalışmasında elde etmiş olduğumuz veriler SEPT9 gen metilasyon çalışmasının ülkemizde bir ticari

kit halinde getirilmesi ve geniş toplum taramalarının yapılması için önemli bir alt yapı oluşturacaktır. Diğer taraftan maliyet analizi yaptığımız zaman bu kitin ortalama 100-150 TL arasında olabileceğini tahmin etmekteyiz. Bu kitin yurt dışından ithal edilen ticari formunu ise hasta başına 900 TL maliyette olduğu bilinmektedir. Bu nedenle ülkemizde bu testin ticari kit haline getirilmesinin ayrı bir öneme sahip olduğu unutulmamalıdır. Her ne kadar SEPT9 yurtdışına göre daha düşük maliyetli olarak uygulanabilecek olsa da Sosyal Güvenlik Kurumu güncel Sağlık Uygulama Tebliği'ne göre "Gaitada gizli kan aranması" (2-3.5 TL) ve "Karsinoembriyonik antijen (CEA)" ise 7 TL fiyat veriliyor olması, SEPT9 gen metilasyon kitinin SGK kapsamına alınması için önemli bir handikap oluşturmaktadır. Yaptığımız istatistiksel sonuçlara göre SEPT9 kitinin yüksek sensitivite ve spesifite değerlerine sahip olması bu testin SGK kapsamı dışında uygulamaya konulmasının daha mantıklı olacağını da göstermektedir.

Kolorektal kanser önlenmesinde ve tedavisinde erken teşhis önemli olup, tarama programlarının kolorektal kanser morbidite ve mortalitesine olumlu katkısı olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu nedenle asemptomatik hastalar hangi risk düzeyinde olursa olsun KRK yönünden taranmalıdır. Toplum, tarama testlerinin erken teşhise olanak sağladığı, KRK morbidite ve mortalite oranlarını düşürdüğü konusunda bilgilendirilmelidir. Ailesinde KRK öyküsü olanlar başta olmak üzere, tüm toplum semptomsuz dönemde tarama testlerini yaptırmak konusunda teşvik edilmelidir.

Tüm dünyada normal populasyonda ve risk gruplarında tarama yöntemleri ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Bizimde kendi verilerimiz ışığında

değerlendirdiğimizde KRKlerin önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu görülmektedir.

Kandan alınan numuneyle kolay uygulanabilir yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olan SEPT9 rutin tarama protokollerindeki yerini almalıdır.

6. ÖZET

Kolorektal kanser (KRK) gelişmiş ülkelerde en sık görülen malignitelerden biridir ve görülme sıklığı gelişmekte olan ülkelerde hızla artmaktadır. KRKlerde altın standart olan kolonoskopinin spesivitesi %95'in üzerindedir. Çalışmalarda KRK insidansını %53-72 ve mortalitesini %31 azalttığı gösterilmiştir. Her ne kadar yüksek spesifitesi olsa da bağırsak temizliği ihtiyacı, uzmanlık gerektirmesi, maliyeti, yapılabilirliği ve çeşitli komplikasyonları gibi limitasyonları da bulunmaktadır. kolorektal kanser taramasındaki konvansiyonel yöntemlerin inefektif ve invaziv olması nedeniyle hasta dostu ve ardışık metodlara daha fazla ihtiyaç duyulmakta. Gaytada gizli kan non invaziv ve düşük maliyetli rölatif kolorektal kanser mortalite riskini %15-25 azaltan bir metoddur. Serum tabanlı tümör markerlar yeterli sensivite ve spesifite değildir. CEAnin sensivitesi %43.9 spesifitesi %95 olarak gösterilmiştir. Lofton Day ve arkadaşları üç markerın sağlam ve kolorektal hastalarından alınan insan plazmasının Metile DNAlarını test etmiş. Bu adaylardan Septin 9 in daha spesifik olduğunu ispatlamıştır. Yeni kan tabanlı kolorektal spesifik test metile septin 9 geliştirilmiştir. Metile Septin 9 kolorektal kanserlerde periferal kandan alınan sensitiv minimal invaziv biomarker olarak bulunmuştur ne var ki gaytada gizli kan ve CEA ile ilişkisi tam olarak tanımlanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Kolorektal kanser, Septin 9

7. ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common malignancies in developed countries, and its incidense is increasing rapidly in developing countries. The gold-standart method of colonoscopy has more than 95% spesificity for CRC. Case control studies have shown reduction of CRC incidence by 53-72% reduction of mortality by %31. Although it has the highest spesificity, there are several limitations, such as the need for bowel preparation, expertise, cost, invasiveness, availability, low adherence rate, and occasional serious complications. Since the conventional methods for CRC screening are either ineffective or invasive, a more patient-friendly and successive method is needed. The sensitive fecal occult blood test is a non-invasive and low cost method with limited sensitivity for CRC and only reduces the relative risk of CRC mortality by %15-25. While several minimal invasive, serum based tumor markers for CRC are available, their specifity and sensitivity are not sufficient Carcinoembryonic Antigen (CEA) has been shown to have a sensitivity of 43.9% at 95% spesitivity. Methylated DNA has also been found in human serum and Lofton-Day et al. tested three such markers in human plasma samples from healty controls and patients with CRC. Out of these candidates Septin 9 (SEPT9) proved to be the most spesific. Subsequently, a new blood based colorectal specific test, the methylated septin 9 test was developed. Several case control studies have been performed to valide the SEPT9 biomarker and based on these findings; SEPT 9 is an appropiate, minimally invasive biomarker for colorectal cancer. Methylated Septin 9 (SEPT9) is a sensitive biomarker for CRC from peripheral blood. However, its relationship to fecal occult blood test (FOBT) and CEA have not been described.

Key Words: Colorectal cancer, Septin 9

8. KAYNAKÇA

1. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2002 [Erratum in: CA Cancer J Clin 2002;52:119; and in CA Cancer J Clin 2002;52:181e182]. CA Cancer J Clin 2002;52:23e47.

2. Reinier G.S. Meester, MS, Erasmus MC University Medical Center, Rotterdam, the Netherlands. Public Health Impact of Achieving 80% Colorectal Cancer Screening Rates in the United States by 2018. March 12, 2015 in *CANCER:* a joint guideline from the American Cancer Society,

3. Hewitson P, Glasziou P, Watson E, Towler B, Irwig L. Cochrane systematic review of colorectal cancer screening using the fecal occult blood test (hemoccult): an update. Am J Gastroenterol 2008; 103: 1541–9.

4. Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Andrews KS, Brooks D, et al (2008) Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society,

5. Pathology and prognostic determinants of colorectal cancer. www.uptodate.com

6. Hardcastle JD, Chamberlain JO, Robinson MH et al. Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer. Lancet 1996; 348: 1472–7.

7. Atkin WS, Edwards R, Kralj-Hans I, Wooldrage K, Hart AR, et al (2010) Onceonly flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial. Lancet 375: 1624–1633.

8. Muller AD, Sonnenberg A (1995) Prevention of colorectal cancer by flexible endoscopy and polypectomy. A case-control study of 32,702 veterans. Ann Intern Med 123: 904–910.

9. Singh H, Turner D, Xue L, Targownik LE, Bernstein CN (2006) Risk of developing colorectal cancer following a negative colonoscopy

examination: evidence for a 10-year interval between colonoscopies. JAMA 295: 2366–2373.

10. Johnson CD, Chen MH, Toledano AY, Heiken JP, Dachman A, et al (2008) Accuracy of CT colonography for detection of large adenomas and cancers. N Engl J Med 359: 1207–1217.

11. Minton JP, Hoehn JL, Gerber DM et al. Results of a 400- patient carcinoembryonic antigen second-look colorectal cancer study. Cancer 1985; 55: 1284–90.

12. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Tangen C. An evaluation of the carcinoembryonic antigen (CEA) test for monitoring patients with resected colon cancer. JAMA 1993; 270: 943–7.

13. Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, et al. The National Polyp StudyWorkgroup. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. N Engl J Med1993;329:1977e81.

14. Shen L, Issa JP. Epigenetics in colorectal cancer. Curr Opin Gastroenterol 2002;18:68e73.

15. Lecomte T, Berger A, Zinzindohoue F, Micard S, Landi B, Blons H,et al. Detection of free-circulating tumor-associated DNA in plasma of colorectal cancer patients and its association with prognosis. Int J Cancer 2002;100:542e8.

16. Worm J, Aggerholm A, Guldberg P. In-tube DNA methylation profiling by fluorescence melting curve analysis. Clin Chem 2001;47:1183e9

17. Warren JD, Xiong W, Bunker AM, Vaughn CP, Furtado LV, et al. (2011) Septin 9 methylated DNA is a sensitive and specific blood test for colorectal cancer. BMC Med. 9: 133.

18. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, et al. (2011) Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 61: 69–90.

19. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. CA Cancer J Clin 2015; 65:5.

20. Ries L, Kosary CL, Hankey BF, et al. SEER cancer statistics review 1973-1995. National Cancer Institute, Bethesda, MD 1998.

21. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER). SEER cancer statistics rewiev 1975-2001. seer.cancer.gov. Accessed July 4,2004

22. Doubeni CA, Laiyemo AO, Major JM, et al. Socioeconomic status and the risk of colorectal cancer: an analysis of more than a half million adults in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study. Cancer 2012; 118:3636.

23. Center MM, Jemal A, Ward E. International trends in colorectal cancer incidence rates. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2009; 18:1688.

24. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin 2010; 60:277.

25. Davis DM, Marcet JE, Frattini JC, et al. Is it time to lower the recommended screening age for colorectal cancer? J Am Coll Surg 2011; 213:352.

26. Fry RD, Mahmoud N, Maron DJ, Ross HM.Colon and Rectum. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL (Eds.) Sabiston Textbook of Surgery. 18th Ed. 1348-1432, Saunders Elsevier, Philadelphia, 2008

27. Gordon PH. Malignant Neoplasms of the Colon. In: Gordon PH, Nivatvongs S (Eds.) Principles and Practice of Surgery for Colon,Rectum, and Anus. 3rd Ed. 489-643, Informa Healthcare USA Inc., 2007

28. Lee BY, Sonnenberg A. Time trends of mortality from colorectal cancer in the United States: a birth-cohort analysis. JAMA Intern Med 2013; 173:1148.

29. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı 2006-2008 yılları Türkiye Kanser İnsidansı, www.kanser.gov.tr.

30. Burt RW, DiSario JA, Cannon-Albright L. Genetics of colon cancer: impact of inheritance on colon cancer risk. Annu Rev Med 1995; 46:371.

31. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR,et al. Genetic alterations during colorectal tumor-development. N Engl J Med 1988; 319:525-532

32. Itzkowitz SH, Rochester J. Colonic Polyps and Polyposis Syndromes. In: Feldman M, Fiedman LS, Brandt LJ (Eds.) Gastrointestinal and Liver Disease. 8th Ed. 2713-2757, Saunders Elsevier, Philadelphia, 2006

33. Ekbom A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. N Engl J Med 1990; 323:1228.

34. Bullard KM, Rothenberger DA. Colon, Rectum, and Anus.In: Brunicardi FC, Andersen DK,et al (Eds.) Schwartz's Principles of Surgery. 8th Ed.1055-1117, The McGraw-Hill Companies Inc., New York, 2005

35. Nottage K, McFarlane J, Krasin MJ, et al. Secondary colorectal carcinoma after childhood cancer. J Clin Oncol 2012; 30:2552.

36. Henderson TO, Oeffinger KC, Whitton J, et al. Secondary gastrointestinal cancer in childhood cancer survivors: a cohort study. Ann Intern Med 2012; 156:757.

37. Baxter NN, Tepper JE, Durham SB, et al. Increased risk of rectal cancer after prostate radiation: a population-based study. Gastroenterology 2005; 128:819.

38. Rex DK, Johnson DA, Anderson JC, et al. American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]. Am J Gastroenterol 2009; 104:739.

39. Cash BD, Banerjee S, Anderson MA, et al. Ethnic issues in endoscopy. Gastrointest Endosc 2010; 71:1108.

40. Schoenfeld P, Cash B, Flood A, et al. Colonoscopic screening of average-risk women for colorectal neoplasia. N Engl J Med 2005; 352:2061.

41. Lansdorp-Vogelaar I, van Ballegooijen M, Zauber AG, et al. Individualizing colonoscopy screening by sex and race. Gastrointest Endosc 2009; 70:96.

42. Delhougne B, Deneux C, Abs R, et al. The prevalence of colonic polyps in acromegaly: a colonoscopic and pathological study in 103 patients. J Clin Endocrinol Metab 1995; 80:3223.

43. Park JM, Choi MG, Kim SW, et al. Increased incidence of colorectal malignancies in renal transplant recipients: a case control study. Am J Transplant 2010; 10:2043.

44. Webster AC, Craig JC, Simpson JM, et al. Identifying high risk groups and quantifying absolute risk of cancer after kidney transplantation: a cohort study of 15,183 recipients. Am J Transplant 2007; 7:2140.

45. Giovannucci E. Insulin and colon cancer. Cancer Causes Control 1995; 6:164.

46. Watkins LF, Lewis LR, Levine AE. Characterization of the synergistic effect of insulin and transferrin and the regulation of their receptors on a human colon carcinoma cell line. Int J Cancer 1990; 45:372.

47. Ma J, Pollak MN, Giovannucci E, et al. Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. J Natl Cancer Inst 1999; 91:620.

48. Koenuma M, Yamori T, Tsuruo T. Insulin and insulin-like growth factor 1 stimulate proliferation of metastatic variants of colon carcinoma 26. Jpn J Cancer Res 1989; 80:51.

49. Gillessen S, Templeton A, Marra G, et al. Risk of colorectal cancer in men on long-term androgen deprivation therapy for prostate cancer. J Natl Cancer Inst 2010; 102:1760.

50. Lagergren J, Ye W, Ekbom A. Intestinal cancer after cholecystectomy: is bile involved in carcinogenesis? Gastroenterology 2001; 121:542.

51. Kitahara CM, Berndt SI, de González AB, et al. Prospective investigation of body mass index, colorectal adenoma, and colorectal cancer in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. J Clin Oncol 2013; 31:2450.

52. Renehan AG, Tyson M, Egger M, et al. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. Lancet 2008; 371:569.

53. Chan AO, Jim MH, Lam KF, et al. Prevalence of colorectal neoplasm among patients with newly diagnosed coronary artery disease. JAMA 2007; 298:1412.

54. Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, et al. Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. JAMA 2008; 300:2765.

55. Boyle T, Keegel T, Bull F, et al. Physical activity and risks of proximal and distal colon cancers: a systematic review and meta-analysis. J Natl Cancer Inst 2012; 104:1548.

56. Michels KB, Joshipura KJ, Rosner BA, et al. Prospective study of fruit and vegetable consumption and incidence of colon and rectal cancers. J Natl Cancer Inst 2000; 92:1740.

57. Koushik A, Hunter DJ, Spiegelman D, et al. Fruits, vegetables, and colon cancer risk in a pooled analysis of 14 cohort studies. J Natl Cancer Inst 2007; 99:1471.

58. Lee JE, Chan AT. Fruit, vegetables, and folate: cultivating the evidence for cancer prevention. Gastroenterology 2011; 141:16.

59. Winawer S, Fletcher R, Rex D, et al. Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale-Update based on new evidence. Gastroenterology 2003; 124:544.

60. Tests for screening for colorectal cancer: Stool tests, radiologic imaging and endoscopy. www.uptodate.com.

61. Sox HC. Office-based testing for fecal occult blood: do only in case of emergency. Ann Intern Med 2005; 142:146.

62. Nadel MR, Shapiro JA, Klabunde CN. A national survey of primary care physicians' methods for screening for fecal occult blood. Ann Intern Med 2005; 142:86.

63. Whitlock EP, Lin JS, Liles E. Screening for colorectal cancer: a targeted, updated systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. Ann Intern Med 2008; 149:638.

64. Mandel JS, Church TR, Ederer F, Bond JH. Colorectal cancer mortality: effectiveness of biennial screening for fecal occult blood. J Natl Cancer Inst 1999; 91:434.

65. Kronborg O, Fenger C, Olsen J, et al. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test. Lancet 1996; 348:1467.

66. Allison JE, Sakoda LC, Levin TR, et al. Screening for colorectal neoplasms with new fecal occult blood tests: update on performance characteristics. J Natl Cancer Inst 2007; 99:1462.

67. Van Rossum LG, van Rijn AF, van Oijen MG. False negative fecal occult blood tests due to delayed sample return in colorectal cancer screening. Int J Cancer 2009; 125:746.

68. Lee JK, Liles EG, Bent S, et al. Accuracy of fecal immunochemical tests for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. Ann Intern Med 2014; 160:171.

69. Ahlquist DA, Sargent DJ, Loprinzi CL. Stool DNA and occult blood testing for screen detection of colorectal neoplasia. Ann Intern Med 2008; 149:441.

70. Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, et al. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening. N Engl J Med 2014; 370:1287.

71. Winawer SJ, Stewart ET, Zauber AG. A comparison of colonoscopy and double-contrast barium enema for surveillance after polypectomy. National Polyp Study Work Group. N Engl J Med 2000; 342:1766.

72. Gatto NM, Frucht H, Sundararajan V. Risk of perforation after colonoscopy and sigmoidoscopy: a population-based study. J Natl Cancer Inst 2003; 95:230.

73. Walter LC, de Garmo P, Covinsky KE. Association of older age and female sex with inadequate reach of screening flexible sigmoidoscopy. Am J Med 2004; 116:174.

74. Imperiale TF, Wagner DR, Lin CY. Risk of advanced proximal neoplasms in asymptomatic adults according to the distal colorectal findings. N Engl J Med 2000; 343:169.

75. Warren JL, Klabunde CN, Mariotto AB. Adverse events after outpatient colonoscopy in the Medicare population. Ann Intern Med 2009; 150:849.

76. Bowel preparation of colonoscopy. www.uptodate.com.

77. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı Değerlendirme Raporları

78. Johnson, CD, Chen, MH, Toledano, AY. Accuracy of CT colonography for detection of large adenomas and cancers. N Engl J Med 2008; 359:1207.

79. Van Gossum A, Munoz-Navas M, Navas MM. Capsule endoscopy versus colonoscopy for the detection of polyps and cancer. N Engl J Med 2009; 361:264.

80. Sandrock K, Bartsch I, Bläser S, Busse A, Busse E, Zieger B: Characterization of human septin interactions. Biol Chem 2011, 392:751–761.

81. Osaka M, Rowley JD, Zeleznik-Le NJ: MSF (MLL septin-like fusion), a fusion partner gene of MLL, in a therapy-related acute myeloid leukemia with a t(11;17)(q23;q25). Proc Natl Acad Sci U S A 1999, 96:6428–6433.

82. Novak P, Jensen TJ, Garbe JC, Stampfer MR, Futscher BW: Stepwise DNA methylation changes are linked to escape from defined proliferation barriers and mammary epithelial cell immortalization. Cancer Res 2009, 69:5251–5258.

83. Lecomte T, Berger A, Zinzindohoue F, Micard S, Landi B, Blons H, et al. Detection of free-circulating tumor-associated DNA in plasma of colorectal cancer patients and its association with prognosis. Int J Cancer 2002;100:542e8.

84. X.L. Su, Y.F. Wang, S.J. Li, F. Zhang, H.W. Cui,et al. High methylation of the *SEPT9* gene in Chinese colorectal cancer patients. Genet. Mol. Res. 13 (2): 2513-2520 (2014)

85. Lansdorp-Vogelaar I, von Karsa L, International Agency for Research on Cancer. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition--Introduction. Endoscopy 2012; 44 Suppl 3:SE15.

86. Burt RW, Cannon JA, David DS, et al. Colorectal cancer screening. J Natl Compr Canc Netw 2013; 11:1538.

87. Ahlquist DA. Molecular detection of colorectal neoplasia. Gastroenterology 2010; 138: 2127–39.

88. K. F. Newton, W. Newman, J. Hill. Review of biomarkers in colorectal cancer. doi:10.1111/j.1463-1318.2010.02439.

89. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2002 [Erratum in: CA Cancer J Clin 2002;52:119; and in CA Cancer J Clin 2002;52:181e182]. CA Cancer J Clin 2002;52:23e47.

90. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer–analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. N Engl J Med 2000; 343: 78–85.

91. Burch JA, Soares-Weiser K, St John DJ et al. Diagnostic accuracy of faecal occult blood tests used in screening for colorectal cancer: a systematic review. J Med Screen 2007;14: 132–7.

92. Johnson CD, Chen MH, Toledano AY, Heiken JP, Dachman A, et al (2008) Accuracy of CT colonography for detection of large adenomas and cancers. N Engl J Med 359: 1207–1217.

93. Lofton-Day C, Model F, Devos T, Tetzner R, Distler J, et al (2008) DNA methylation biomarkers for blood-based colorectal cancer screening. Clin Chem 54: 414–423.

94. Kinga Toth, Ferenc Sipos, Alexandra Kalmar et al. Detection of Methylated SEPT9 in Plasma Is a Reliable Screening Method for Both Left- and Right-Sided Colon Cancers. PLoS ONE 7(9): e46000. doi: 10.1371.

95. Nawa T, Kato J, Kawamoto H, Okada H, Yamamoto H, et al (2008) Differences between right- and left-sided colon cancer in patient characteristics, cancer morphology and histology. J Gastroenterol Hepatol 23: 418–423.

96. Scott M, McCluggage WG, Hillan KJ, Hall PA, Russell SE: Altered patterns of transcription of the septin gene, SEPT9, in ovarian tumorigenesis. Int J Cancer 2006, 118:1325–1329.

97. Grutzmann R, Molnar B, Pilarsky C, Habermann JK, Schlag PM, et al (2008) Sensitive detection of colorectal cancer in peripheral blood by septin 9 DNA methylation assay. PLoS One 3: e3759.