Ulusal Cerrahi Dergisi 2011; 27(4): 198-205
DOI: 10.5097/1300-0705.UCD.1256-11.01
DERLEME
STE/SMG KAPSAMINDADIR

Kolorektal kanser: Genetik ve moleküler biyoloji araştırmaları hasta tedavisine yeterince yansıyor mu?

Colorectal cancer: are genetic and molecular biology researches reflected enough in the patient management?

Emel Canbay*, Dursun Buğra**

Günümüzde kolorektal kanser hastalarının yönetimine yansıyan klinik translasyonel araştırmaların sonuçları, antikor tedavisi ve tedaviye yanıtı belirleyen KRAS mutasyonunun saptanması ile sınırlı kalmaktadır. Ancak yakın gelecekte bu araştırmaların sonuçları ile yeni moleküler belirteçlerin klinik kullanıma girmesi beklenmektedir. Bu derlemede, kolorektal kanser gelişiminde rol oynayan genetik ve epigenetik risk faktörleri, moleküler tanısal ve prognostik belirteçler, moleküler hedefli tedaviler ve tedaviye yanıtın belirlenmesinde önemi olan umut vaat eden moleküller incelenecektir.

Anahtar Kelimeler: *Kolorektal kanser, genetik, moleküler belirteçler*

*Kocaeli Derince Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Kocaeli, Türkiye
**Amerikan Hastanesi, Genel Cerrahi Bölümü, İstanbul, Türkiye

Dr. Emel Canbay
E-posta: dremelcanbay@gmail.com

Makale Geliş Tarihi: 10.09.2011
Makale Kabul Tarihi: 25.10.2011

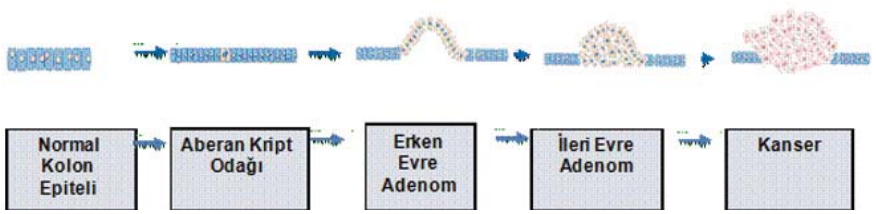
GİRİŞ

Translasyonel araştırmalar, karsinogenezis evrelerinde gelişen hücre içi olayların anlaşılmasını sağlayan ve bu olayların sonuçlarının kanser hastalarının klinik yönetimine yansımasını temel alan çalışmalardır. Nitekim bu araştırmaların sonuçları günümüzde kolorektal kanserlerde de kişiselleştirilmiş tedaviler olarak yerlerini bulmaya başlamışlardır. Kolorektal kanser tedavisinde kliniğe yansıyan moleküller, tedaviye yol gösterici olarak mutasyonu saptanan *KRAS* onkojeni ile tedavi amaçlı kullanılan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (Epidermal Growth Factor Receptor - EGFR), Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor - VEGF) ve tirozin kinaz inhibitörlerine (Tyrosine Kinase Inhibitors - TKI) karşı geliştirilen antikorlardır (1-3). *KRAS* mutasyonunun varlığı, EGFR'nü hedefleyen antikorlar setuksimab (Erbitux®) ve panitumumab (Vectibix®) kullanımı için belirteç olarak kabul edilmektedir (4) ve *KRAS* mutasyonu varlığında EGFR antikoru kullanımının bir anlamı kalmamaktadır. Böylelikle, EGFR antikoru tedavisi öncesi *KRAS* mutasyonunun belirlenmesi tedaviye dirençli grubun belirlenmesini olanaklı kılmaktadır. Translasyonel araştırmaların sonuçları sadece tedavi ile sınırlı değildir. Bu derlemede kolorektal karsinogenezis, kolorektal kanser riski, tanısı, prognozu, tedavisi ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde klinik önemi olan ve yakın gelecekte kolorektal kanserli hasta yönetiminde kararlarımızı etkileyeceğini düşündüğümüz moleküller gözden geçirilecektir.

Kolorektal Karsinogenezisin Moleküler Mekanizması

a. Adenom-Karsinom Ardışıklığı

Kolorektal kanser, normal glandüler epitelin invaziv kansere değişim gösterdiği genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimidir. Normal kolon epitelinin adenoma, invaziv kansere ve metastatik kansere dönüşümünü içeren basamaklar Vogelstein ve Fearon tarafından tanımlanmıştır (Şekil 1) (5). Bu model ilk tanımlandığında tübüler ve tübülovillöz adenomların karsinoma ilerlediği bildirilmiş, daha sonra sesil serrated adenomlar ve klasik serrated adenomların da kansere dönüşüm potansiyeli içerdiği gösterilmiştir (6,7). Bu polipler kansere dönüşüm için alternatif bir yol içermektedirler. Klasik ve sesil serrated poliplerin kansere dönüşümü, Mikrosatellit İnstabilitesi (Microsatellite Instability=MSI), CpG Adacıklarında Yoğun DNA Metilasyonu (Aberran DNA methylation at CpG Islands= CIMP) ve BRAF V600E mutasyonu ile, tübüler adenomatöz poliplerin kansere dönüşümü ise adenomatöz polipozis koli (Adenomatous



Şekil 1. Kolorektal karsinogenezisde adenom-karsinom ardışıklığı. Vogelstein ve Fearon (5) tarafından tanımlanan normal kolonik epitelin kansere dönüşüm basamakları

Tablo 1. Kolorektal karsinogenezisde serrated ve tübüler adenomatöz poliplerin kansere dönüşümünde rol oynayan genetik değişiklikler

Genetik Değişiklikler	Serrated Polipler	Tübüler Adenomatöz Polipler
MSI	+	-
CIMP	+	-
BRAF V600E mutasyonu	+	-
APC gen inaktivasyonu sonucu gelişen CIN	-	+

Tablo 2. Herediter ve sporadik kolorektal kanserlerdeki genetik ve epigenetik değişiklikler

Genetik/Epigenetik Değişiklikler	HNPCC (Lynch Sendromu)	Familyal Adenomatöz Polipozis Koli	Sporadik Kolorektal Kanserler
MMR inaktivasyonu ile MMR protein kaybı	(+)	(–)	(–)
MLH1, MSH2, MSH6, PMS 2 germline mutasyonu	(+)	(–)	(–)
MLH1 Hipermetilasyonu	(–)	(–)	(+)
BRAF V600E mutasyonu	(+)	(–)	(–)
APC Gen Mutasyonu	(–)	(+)	(–)
CIN	(–)	(+)	(–)

Polyposis Coli = APC) gen inaktivasyonu ve kromozom instabilitesi (Chromosomal Instability = CIN) ile ilişkili olarak bulunmuştur (Tablo 1) (8).

b. Genomik ve Epigenomik İnstabilite ve Kromozomal Değişiklikler

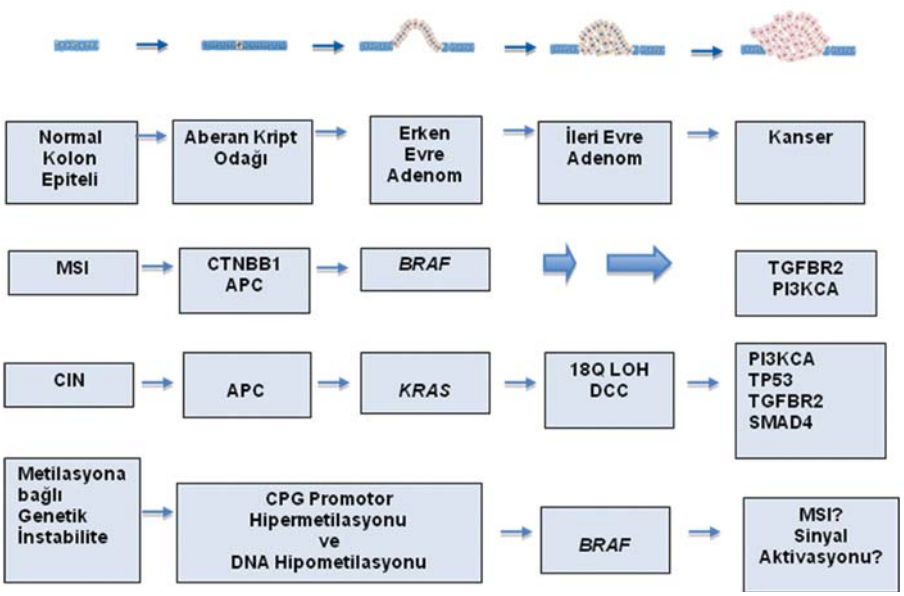
Kolorektal karsinogenezisde; CIN, MSI, CIMP, ve yaygın DNA hipometilasyonu olmak üzere dört tip genomik ve epigenomik instabilite tanımlanmıştır. Genomik ve epigenomik instabilite, kolorektal karsinogenezisin en önemli basamağıdır (Şekil 2) (9,10).

- **Kromozomal İnstabilite.** Kolorektal kanserlerin %85'inde en sık olarak gözlenen genomik instabilitedir ve CIN'in klonal farklılığını arttırarak kansere dönüşüme neden olduğu düşünülmektedir (11,12). Yapılan çalışmalar CIN'in kolorektal kanserde kötü prognostik faktör olduğunu desteklemektedir (12,13).
- **Mikrosatellit İnstabilite.** Kolorektal kanserlerin %15'inde tek ya da çift nükleotidde MSI tespit edilmiştir (14). MSI içeren tümörlerin CIN'li tümörlere göre prognozunun daha iyi olduğu bildirilmiştir (12,15). MSI'nin kansere dönüşüm mekanizmasında, DNA Mismatch Repair (MMR) genlerinin aşırı metilasyon ya da somatik mutasyon ile inaktivasyonu rol oynamaktadır (16). Lynch Sendromu'nda (Herediter Non-Polipozis Kolorektal Kanser = HNPCC) MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 gibi MMR genlerinde gelişen germline mutasyon sonucu MSI meydana gelirken, sporadik kolorektal kanserlerde MLH1 geninin aşırı metilasyonu ile MMR gen aktivasyonunun kaybı ile gelişen MSI oluşmaktadır (Tablo 2) (16,17). *BRAF* V600E mutasyonu sporadik kolorektal kanser riski ile ilişkili iken, HNPCC hastalarında saptanmamıştır (18,19).
- **CpG Adacık Hipermetilasyonu.** Kolorektal kanserde bulunan bir diğer epigenetik değişiklik de CpG adacıkları içeren promotor gen bölgesinin hipermetilasyonu ve yaygın DNA hipometilasyonu ile ortaya çıkar ve mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte yapılan çalışmalar sporadik kolorektal kanser gelişiminde rol oynayan MSI ile CIMP arasındaki ilişkiyi desteklemektedir (Tablo 2) (20,21).

c. Hücre İçi Moleküller ve Gelişen Olaylar

Kolorektal kanser patogenezinde genomik ve epigenomik instabilite kadar, hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptozis, immortalizasyon, anjiogenezis ve invazyon gibi karsinogenezisde kritik olayları düzenleyen çok özel genlerin mutasyonları ve bunun sonucu değişen sinyal yolakları da önemli yer tutar. Kolorektal kanserler için en iyi çalışılmış yolak Wnt-β Katenin sinyal yolağı, Transforme Edici Büyüme Faktörü-β (TGF)-β sinyali, Epidermal Büyüme Faktörü (EGF), Mitojenler ile Aktive Edilen Protein Kinaz (MAPK) ve Fosfatidil İnozitol 3-Kinaz (PI3K) yolaklarıdır (4,14). Kolorektal karsinogenezisde gelişen hücre içi olaylar Tablo 3'de verilmiştir.

- ***Wnt* Sinyal Mekanizması**. *APC* genindeki mutasyon kolorektal karsinogenezisin erken evrelerinde oluşmaktadır (Şekil 2) (5). Klasik tübüler adenom gelişimi, CIN (+) kanserler ve familyal adenomatöz polipozis koli ile ilişkilidir (5,22,23). *APC* proteini, *Wnt* sinyalini negatif olarak düzenlemektedir. *APC* genindeki mutasyon sonucu oluşan APC proteinin kaybı, nükleer β-kateninin stabilizasyonu ile *Wnt* sinyalinin sürekli aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır. B-katenin gen mutasyonu, adenomlarda ve invaziv kanserlerde sırasıyla %12.5 ve %1.4 oranlarında saptanmaktadır ve APC proteininin yıkımını inhibe etmektedir (24). Bu sinyal yolağı ile ilgili yapılan araştırmalara rağmen APC, βkatenin ve *Wnt* sinyal mekanizmasına ait henüz klinik kullanıma yansıyan herhangi bir molekül bulunmamaktadır.
- **TGF- β Sinyal Mekanizması.** TGF- β sinyali, kolorektal karsinogenezisde tümör süpressör sinyal olarak bilinmektedir (25). TGF- βR2, kolorektal kanserli hastaların %30'unda saptan-



Şekil 2. Kolorektal karsinogenezisde epigenetik ve genetik instabilite ve kansere dönüşüm basamakları

mıştır ve kolorektal karsinogenezisde ileri evre adenomdan kansere dönüşüm basamağında etkili olduğu düşünülmektedir (25). TGF- β mutasyonu MSI içeren tümörlerde yaygındır (Şekil 2). MSI stabil olan tümörlerde %15 oranında tespit edilmiştir (26-28). TGF- β yolağı ile ilişkili SMAD-4 molekülü kolorektal kanserli hastaların %50'den fazlasında saptanmıştır ve lenf nodu metastazı ile ilişkilidir (29). TGF- β ve yolağı ile ilişkili günümüzde klinik kullanıma yansıyan bir uygulama yoktur. Ancak SMAD-4 molekülünün prognoz ve 5-florourasil'e (FU) yanıt ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar vardır (30,31).

- **18qLOH.** 18. Kromozomun uzun kolunda heterozigosite kaybı (18qLOH) kolorektal kanserli hastaların %70'inde saptanan ve en sık görülen sitogenetik değişikliktir (5,13). Bu bölgede yer alan, kolorektal kanserde silinen bölge (Deleted in Colorectal Cancer = DCC) geni ve SMAD4 genlerinin karsinogenezisden sorumlu olduğu düşünülmektedir. TGF- β yolağında yer alan, SMAD2 ve SMAD7 mediyatörleri de bu bölgede yer almaktadır. Ancak, 18qLOH henüz klinik kullanımda kabul edilmemiştir.
- **TP53.** P53 tümör supresör gen mutasyonu kolorektal kanserli hastaların yaklaşık %50'sinde oluşmaktadır ve adenomun kansere dönüşümünü başlatmaktadır (Şekil 2) (5). APC geni gibi P53 geni de supresördür ancak kolorektal kanser açısından prediktif ya da prognostik bir anlamlılığı yoktur (13).
- **Epidermal Büyüme Faktörü Sinyali**. *KRAS* protoonkojeni , EGFR sinyalinin BRAF aracılıklı MAPK sinyal mekanizmasında yer alan bir moleküldür. Kolorektal kanserli hastaların %40'ında *KRAS* onkojeninin 12. ya da 13. kodonunda mutasyon saptanmıştır (32). *KRAS* mutasyonu, adenom-karsinom ardışıklığında APC mutasyonundan sonra oluşmasına rağmen, erken karsinogenezisde önemlidir (Şekil 2) (5). Primer ve metastatik kolorektal kanserli hastalar ile KRAS mutasyonu arasında doğru bir ilişki olduğu bildirilmiştir (33,34). Kolorektal kanserlerin %10-15'inde BRAF V600E mutasyonu saptanmıştır (3). *KRAS* ve *BRAF* mutasyonlarından herhangi birinin varlığı MAPK yolağının aktivasyonu ile tümörigenezisin başlaması için yeterlidir (35). BRAF mutasyonu genellikle MSI içeren tümörlerde, CIMP (+) ve serrated tümörlerde sık olarak saptanmıştır (35,36). Bu sonuçlar BRAF'ın kolorektal kanser taramalarında, tanısında ve prognozunda önemli olabileceğini desteklemektedir.
- **PI3K Sinyali.** Kolorektal kanserli hastaların %32'sinde PI3KCA mutasyonu belirlenmiştir (37). MSI içeren tümörlerin %30'unda ve CIN içeren tümörlerin %9 'unda PTEN mutasyonu tespit edilmiştir (38). *KRAS* aktivasyonu yoluyla düzenlenen EGFR sinyali için bu yolun düzenleyicileri olan PTEN ve PI3KCA mutasyonunun belirleyici olması son derece mantıklıdır (39,40).

Tablo 3. Kolorektal karsinogenezisde hücre içi moleküler lezyonlar

Kolorektal Karsinogenezisde Hücre İçi Moleküller	Moleküler Lezyon	Sıklık
WNT/β-katenin24	aktive mutasyon	%1.4
TGFBR225	inaktive mutasyon	%30
SMAD429	artan ekspresyon	%50
18qLOH5,13	18.kromozomun uzun delesyonu	%50
TP535	inaktive mutasyon	%50
KRAS32	12. ve 13.kodonunda mutasyonu	%40
BRAF3	V600E mutasyonu	%10
PI3KCA37	mutasyonu	%32

Kolorektal Kanser Riskinin Saptanmasında Moleküler Belirteçler

Kolorektal adenomlarının ve kanserlerin erken saptanması açısından en güçlü ve kabul edilebilir moleküler belirteçler Familyal Adenomatöz Polipozis Koli (FAP) için APC ve BMPR1A genlerindeki germline mutasyonlar, HNPCC için ise MSI'dir (Tablo 2). HNPCC (Lynch) Sendromu'nun tanısında MMR genlerden MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2'deki germline mutasyonların saptanması önemlidir (Tablo 2) (41). Bu genlerdeki mutasyonlar için birinci basamak tanı aracı immünohistokimyasal tetkiklerdir (42).

Sporadik kolorektal kanser riski ile spesifik gen polimorfizmleri arasındaki ilişki ülkemizde de birçok araştırmanın konusu olmuş, moleküler risk faktörleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu genlerden APC (43), Siklin Bağımlı Kinaz (CDKN1A) (44), Nitrik Oksit Sentetaz (NOS) (45), DNA Repair genlerinden APE1 ve HOGG1 (46) ve PTEN (47) gen polimor-

Tablo 4. Kolorektal kanser tanısında hücre içi moleküller

Kolorektal Kanser Tanısında Moleküller	Moleküler lezyon	Sıklık	Tanısal Değeri
Vimentin51	metilasyon	%75	Erken tanı olanağı
BRAF18,19	V600E mutasyonu	%10	Lynch Sendromu
MSI14	instabilite	%15	Lynch Sendromu
APC5,22,23	inaktive eden mutasyon	%70	FAP
MMR41	protein kaybı, metilasyon, inaktive mutasyon	%1-15	Lynch Sendromu

Tablo 5. Kolorektal kanserin tıbbi tedavisinin değerlendirilmesi açısından klinik önemi olabilecek moleküller

Kolorektal Kanserde Tıbbi Tedavinin Değerlendirilmesinde Hücre içi Moleküller	Lezyon	Hedef tedavi molekülü
KRAS63,64	inaktive mutasyon	EGFR blokajı
BRAF68	aktive mutasyon	EGFR blokajı- irinotekan'a yanıt
PTEN/PI3KCA72-74	ekspresyon kaybı	EGFR blokajı
MSI76-78	instabilite	5-FU'e yanıt
18qLOH/SMAD482	ekspresyon kaybı	5-FU'e yanıt
Topoizomeraz I83	ekspresyonu	İrinotekan'a yanıt
Timidilat sentaz84	polimorfizm	5-FU'e yanıt
Dihidropirimidin Dehidrogenaz85	polimorfizm	5-FU'e yanıt

fizmlerinin Türkiye'de sporadik kolorektal kanser gelişim riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Türkiye'deki sporadik kolorektal kanser riski ile ilişkili genetik polimorfizmlerin belirlenmesi için daha büyük çalışma gruplarını içeren çok merkezli araştırmalara ihtiyaç vardır.

Kolorektal Kanser Tanısında Moleküler Belirteçler

Kolonoskopi ve dışkıda gizli kan araştırması, kolorektal kanser taramalarında en yaygın kullanılan testlerdir (48). Kolorektal kanserin moleküler patogenezisini anlamamız, kolorektal kanser tanısında da tarama amaçlı kullanılabilecek moleküller bulunabileceğini düşündürmüştür (49,50). ABD'de, dışkıda ''metilasyona uğrayan vimentinin'' saptanması kolorektal kanser taramalarında kullanılmaya başlanılmıştır (51,52). Bu test, kolorektal kanser hastalarının %53-84'ünün dışkısında metile vimentinin bulunması esasına dayanmaktadır ve testin duyarlılığı %83, özgünlüğü %82 olarak bildirilmiştir (Tablo 4). HNPCC tanısında, BRAF, MSI ve MMR genlerinin mutasyonu ve FAP tanısında APC mutasyonu klinik önemi olan genlerdir (Tablo 4). Bu veriler, moleküler belirteçlerden oluşacak testlerin çok yakında klinik kullanıma gireceğinin habercisidir.

Kolorektal Kanserde Prognostik Belirteçler

a. Genomik İnstabilite. MSI içeren kolorektal kanserlerin, CIN içeren tümörlerden daha iyi prognoza sahip olduğu meta-analiz sonuçları olarak bildirilmiştir (12,15). Bu sonuçlara göre, tümörlerin MSI (+) ve CIN (+) olmasının kabul edilebilir prognostik değerlerine rağmen, her iki belirteç de henüz klinik uygulamada rutin olarak kullanılmamaktadır. CALGB 9581-89803 çalışmasının sonuçlarına göre tümörün MMR mutasyonunun neden olduğu MSI içermesi, evre II-III kolorektal kanserli hastalarda prognostik bir belirteç olduğunu desteklemektedir (53).

b. 18qLOH Kaybı. Onyedi çalışmanın sonuçlarının incelendiği meta-analize göre, 18. kromozomun uzun kolundaki heterozigosite kaybı kolorektal kanserler için kötü prognostik faktör olarak gözükmektedir (13). Ayrıca, 18q'daki heterozigosite kaybının, tümörün CIN içermesi ile doğru orantılı, MSI içermesi ile de ters orantılı bir ilişkide olduğu bildirilmiştir (14). CALGB 9581-89803 çalışması sonuçlarına göre 18q LOH'nin evre II-III kolorektal kanserlerde prognostik bir değerinin olmadığını desteklemektedir (53).

c. EGFR Sinyali. *KRAS, BRAF*V600E ve PI3KCA mutasyonunun prognostik önemi yapılan çalışmalarda değerlendirilmiştir (54-59). Özellikle *BRAF*'ın, genel sağkalım açısından prognostik önemi olduğu saptanmıştır (54,55). Şu ana kadar yapılan en büyük çalışma grubuna sahip araştırmada, *KRAS* mutasyonunun genel sağkalım açısından kötü prognostik olduğu saptanmıştır (60). KRAS mutasyonunun saptanması, setuksimab ve panitumumab kullanıma karar verilmesi açısından klinik kullanımına girmiştir. İleri evre ve metastatik kolorektal kanserli hastalarda, EGFR antikoru kullanımından önce *KRAS* mutasyonunun saptanması EGFR blokajı ile oluşturulacak hücre içi sinyalinin inhibisyonunu engelleyememektir. Bununla birlikte *KRAS* mutasyonu ancak tüm kolorektal kanserli hastaların %30'unda saptanmıştır (32) ve mutasyon olmayan hastalarda da EGFR antikoruna yanıt %15 ile sınırlıdır (61).

Kolorektal Kanserde Tedavi Yanıtının Belirlenmesinde Moleküler Belirteçler

Kolorektal kanserin asıl tedavisi cerrahi ile olmakla birlikte, evre III ve IV kolorektal kanserlerde tıbbi tedavi ile de ilerleme kaydedilmiştir (62). Genetik ve epigenetik olaylar ve bu mekanizmalarda rol alan moleküller ile gelişen kolorektal kanserin bireysel tedavisi de bu moleküllerin kullanılması esasına dayanmaktadır. Bu moleküllerin klinik uygulamalara yansıyan en güzel örneği setuksimab (Erbitux®) ve panitumumab (Vectibix®) ile tedavinin etkinliğini belirlemek için kullanılan *KRAS*'dir. Özellikle metastatik kolorektal kanserlerde EGFR'nü hedefleyen tedavilere yanıtın %15 ile sınırlı kalması *KRAS* ve *BRAF*, PI3K ve PTEN gibi umut vaat eden moleküllerin araştırılmasına yol açmıştır (61). Tedaviye yanıtın değerlendirilmesi açısından üzerinde araştırma yapılan moleküller Tablo 5'te verilmiştir.

a. *KRAS*. *KRAS* 12. ya da 13. kodonda mutasyon olan metastatik kolorektal kanserli hastaların EGFR'nü hedefleyen setuksimab ya da panitumumab tedavisine yanıt vermedikleri Faz III çalışmalar ile gösterilmiştir (63,64). Metastatik kolorektal kanserlerde KRAS'ın mutant olmaması, anti-EGFR tedavi endikasyonu olarak Avrupa Sağlık Otoritesi (European Health Authority) (65), Amerikan Klinik Onkoloji Birliği (66) (American Society of Clinical Oncology =

ASCO), ve Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (67) (National Comprehensive Cancer Network = NCCN) tarafından kabul edilmiştir. Bütün bunlara rağmen KRAS normal olan hastaların ancak %30'u anti - EGFR antikoru ile tedaviye yanıt verebilmektedir (61). Bu durum, tedavi etkinliğinin belirlenmesi için ilave belirteçlere gereksinim olduğunu desteklemekte ve bu yönde yapılan araştırmaların temelini oluşturmaktadır.

b. ***BRAF.*** *BRAF, KRAS/RAF*/MAPK sinyalinde mediyatör olarak görev almaktadır. Bu konuda var olan sınırlı araştırmalardan birinin sonucunda, *BRAF* mutasyonu varlığında *KRAS* normal olsa bile, 11 hastanın hiçbirinin EGFR antikoruna yanıt vermediği, *BRAF* ve *KRAS* normal olduğunda da 68 hastadan 22'sinin (%32) EBFR antikoruna yanıt verebildiği bildirilmiştir (68). Aynı şekilde, setuksimab ve irinotekan ile kombine tedavi alan hastalarda yapılan bir diğer çalışmada ise, *BRAF* mutasyonu olan 13 hastanın hiçbirinde tedaviye yanıt yok iken, BRAF normal olan 74 hastanın 24'ünde (%32) tedaviye yanıt oranları bildirilmiştir (69). Diğer çalışmalar, *BRAF*'ın tedavinin değerlendirilmesinde güçlü bir moleküler belirteç olduğunu desteklememektedir (70,71). Bununla birlikte, bu çalışmalarda *BRAF* mutasyonu tedaviden bağımsız kötü prognostik belirteç olarak bildirilmiştir.

c. **PI3K Sinyali**. EGFR antikoru ile tedaviye yanıtın belirlenmesinde rolü olabilecek diğer moleküller arasında, başlıca PI3K yolağında PI3K mutasyonu ve bu yolakta effektör ve negatif düzenleyici olarak görev alan PTEN (protein fosfataz tensin analogu) protein kaybı bildirilmiştir (Tablo 4) (61). Yapılan çalışmalarda, PI3KCA mutasyonu ve PTEN protein kaybının, setuksimab'a yanıtsızlık ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (40, 72-74). KRAS ve BRAF mutasyonuna ek olarak PI3K mutasyonu ve PTEN kaybı birlikte değerlendirildiği zaman hastaların yaklaşık %70'inde setuksimab yanıtının önceden kestirilebileceği bildirilmiştir (61,74). Bu konuda daha geniş çalışma grupları üzerinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmakla birlikte, yakın gelecekte *KRAS* mutasyon analizine ilaveten PI3K ve PTEN'in tedavinin belirlenmesinde klinik uygulamalara gireceği öngörülmektedir.

d. **EGFR Mutasyonu**. EGFR hedefli tedavide başka bir molekülde EGFR'ın kendisidir. Tedaviye yanıtta EGFR ekspresyonunu değerlendiren erken çalışmalarda standart teknik eksikliği nedeniyle tedavi yanıt ilişkisi tam olarak bilinmemektedir (75). EGFR katalitik bölgesinin mutasyonu kolorektal kanserlerde nadir olarak bildirilmiştir (3). Tedavinin değerlendirilmesi açısından EGFR ekspresyonunun belirlenmesi klinik kullanımdan uzak gözükmektedir.

e. **MSI**. 5-FU, MSI gösteren tümörlerde etkisiz kalmaktadır (76). Ancak, MSI'den gelişen kolorektal kanserlerde 5-FU'e direnç evre ile ilişkili olarak bildirilmiştir (77,78). Geniş hasta grubunu içeren prospektif randomize çalışmada, evre III MSI içeren kolorektal kanserli hastalarda irinotekan+5-FU tedavisine yanıtın 5-FU'e yanıttan daha iyi olduğu bildirilmiştir (53). CALGB98303 çalışmasının sonucu olarak evre III hastalarda alt grup belirlemeden tüm hastalara irinotekan eklenmesinin 5-FU tedavisine bir üstünlüğü olmadığının bildirilmesi, MSI belirlenmesinin irinotekan tedavisine yanıtın bir belirteci olabileceğini desteklemektedir (79). MSI'nin adjuvan tedavinin belirteci olarak klinik kullanıma girebilmesi için tekrarlanabilir çalışma sonuçlarına ve büyük hasta gruplarına ihtiyacımız vardır

f. **18qLOH kaybı**. 5-FU tedavisinde ortaya çıkan yan etkiler ile 18qLOH ilişkili olarak gözükmektedir (31, 80). Bu ilişki 18. kromozomun uzun kolunda yerleşmiş olan SMAD4 geninin kaybı ile bağlantılı gözükmektedir (30,31). Yapılan klinik çalışmalar, MSI ve 18qLOH'un tedaviye etkinliğinin belirlenmesine katkıda bulunacaktır.

g. **Topoizomeraz I**. İrinotekan, topoizomeraz I inhibitörüdür. Topoizomeraz I düzeylerininin irinotekana yanıtın belirleyici olması son derece mantıklıdır. Nitekim bu konuyu araştırmayı amaçlayan büyük çalışma gruplu randomize klinik çalışma, topoizomeraz I'in artan ekspresyonunun irinotekan'a yanıt ile ilişkili olduğunu göstermiştir (81). Bu çalışmada, topoizomeraz I ekspresyonu düşük olan hastaların irinotekana yanıtının da olmadığı gösterilmiştir. Bu sonuçların klinik geçerliliği için büyük çalışma gruplarında tekrarlanabilir olan sonuçlara ihtiyaç vardır.

h. **Genetik polimorfizmler**. Tedavi açısından timidilat sentaz (82) ve dihidropirimidin dehidrogenaz (83) gen polimorfizminin de 5-FU'e yanıtın belirlenmesinde önemli olduğunu desteklemekle birlikte henüz sonuçların klinik kullanım açısından geçerliliği yoktur (82,83). Bunların dışında UDP-glukronil transferaz-I enziminin A1 geni, irinotekanı detoksifiye eden enzim genidir ve bu enzim aktivitesinin azalmasıyla sonuçlanan genetik polimorfizmi doz bağımlı toksisite ile sonuçlanmaktadır (84,85).

SONUÇLAR

Kolorektal kanser üzerine sürdürülen moleküler çalışmalar EGFR antikoru ve EGFR antikoruna yanıtın belirlenmesinde klinik kullanıma giren KRAS mutasyonunun saptanması ile sonuçlanmıştır. MSI ve BRAF mutasyonu, Lynch Sendromu'nda açık olarak rolü kanıtlanmış ve kabul edilmiş moleküllerdir. Multikinaz /BRAF inhibitörü sorafinib'in ve PI3K inhibitörlerin klinik kullanımda etkinliğini belirleyen çalışmalar hali hazırda sürdürülmektedir. Sorafinib, BRAF mutant hücrelerde anti-EGFR antikoruna yanıtı restore edebilmektedir ve tedavi açısından umut vaat eden bir molekül olarak gözükmektedir (86). PTEN kaybı ve PI3KCA mutasyonunun klinik geçerliliğini araştıran çalışmalar faz II çalışmalara geçmiştir (87).

Kolorektal kanserin tedavisinde yıllar içinde ciddi ilerlemeler elde edilmiştir. Kolorektal kanser risk belirlenmesinde, kolorektal polip ve kanserin erken tanısında, prognoz belirlenmesinde, tedaviye yanıtın öngörülmesinde ise belirteç olabilecek moleküllerin araştırıldığı moleküler temelli çalışmaların, tedavideki başarıları daha da ileriye taşımaları hedeflenmektedir.

SUMMARY

Colorectal Cancer: Are genetic and molecular biology researches reflected enough in the patient management?

Nowadays, the results of clinical translational researches reflecting in the management of colorectal cancer patients are limited with usa of antibody therapy and detection of KRAS mutation determining the response to antibody treatment. However, in the near future, the new molecular markers are expected to enter into clinical usa with the results of these studies. In this review, the genetic and epigenetic risk factors which play a role in the development of colorectal cancer, molecular diagnostic and prognostic markers, molecular-targeted treatments and promising molecules that are critical in determining the response to the therapy will be examined.

Key Words: *Colorectal cancer, genetic, molecular markers*

KATKIDA BULUNANLAR

Çalışmanın düşünülmesi ve planlanması:
Emel Canbay, Dursun Buğra

Verilerin elde edilmesi:
Emel Canbay, Dursun Buğra

Verilerin analizi ve yorumlanması:
Emel Canbay, Dursun Buğra

Yazının kaleme alınması:
Emel Canbay, Dursun Buğra

İstatistiksel değerlendirme:
-

KAYNAKLAR

1. Murphy JE, Ryan DP. American Society of Clinical Oncology 2010 colorectal update. Expert Rev Anticancer Ther 2010;10:1371-1373. doi:10.1586/era.10.123 http://dx.doi.org/10.1586/era.10.123
2. Garufi C, Torsello A, Tumolo S, Ettorre GM, Zeuli M, Campanella C, Vennarecci G, Mottolese M, Sperduti I, Cognetti F. Cetuximab plus chronomodulated irinotecan, 5-fluorouracil, leucovorin and oxaliplatin as neoadjuvant chemotherapy in colorectal liver metastases: POCHER trial. Br J Cancer 2010;103:1542-1547.
3. Van Meter ME, Kim ES. Bevacizumab: current updates in treatment. Curr Opin Oncol 2010;22:586-591.
4. 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;154:37-49.
5. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. Genetic alterations during colorectal-tumor development. N Engl J Med 1988;319:525-532.
6. Goldstein NS. Serrated pathway and APC (conventional)-type colorectal polyps: molecularmorphologic correlations, genetic pathways, and implications for classification. Am J Clin Pathol 2006;125:146-153.
7. Jass JR. Hyperplastic polyps and colorectal cancer: is there a link? Clin Gastroenterol Hepatol 2004;2:1-8.
8. Noffsinger AE. Serrated polyps and colorectal cancer: new pathway to malignancy. Annu Rev Pathol 2009;4:343-364.
9. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000;100:57-70.
10. Little MP, Vineis P, Li G. A stochastic carcinogenesis model incorporating multiple types of genomic instability fitted to colon cancer data. J Theor Biol 2008;254:229-238.
11. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. Gastroenterology 2008;135:1079-1099.
12. Walther A, Houlston R, Tomlinson I. Association between chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. Gut 2008;57:941-950.
13. Popat S, Houlston RS. A systematic review and meta-analysis of the relationship between chromosome 18q genotype, DCC status and colorectal cancer prognosis. Eur J Cancer 2005;41:2060-2070.
14. Walther A, Johnstone E, Swanton C, Midgley R, Tomlinson I, Kerr D. Genetic prognostic and predictive markers in colorectal cancer. Nat Rev Cancer 2009;9:489-499.
15. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. J Clin Oncol 2005;23:609-618.
16. Grady WM. Genomic instability and colon cancer. Cancer Metastasis Rev 2004;23:11-27.
17. Kane MF, Loda M, Gaida GM, Lipman J, Mishra R, Goldman H, Jessup JM, Kolodner R. Methylation of the hMLH1 promoter correlates with lack of expression of hMLH1 in sporadic colon tumors and mismatch repair-defective human tumor cell lines. Cancer Res 1997;57:808-811.
18. Domingo E, Laiho P, Ollikainen M, Pinto M, Wang L, French AJ, Westra J, Frebourg T, Espín E, Armengol M, Hamelin R, Yamamoto H, Hofstra RM, Seruca R, Lindblom A, Peltomäki P, Thibodeau SN, Aaltonen LA, Schwartz S Jr. BRAF screening as a low-cost effective strategy for simplifying HNPCC genetic testing. J Med Genet 2004;41:664-668.
19. Wang L, Cunningham JM, Winters JL, Guenther JC, French AJ, Boardman LA, Burgart LJ, McDonnell SK, Schaid DJ, Thibodeau SN. BRAF mutations in colon cancer are not likely attributable to defective DNA mismatch repair. Cancer Res 2003;63:5209-5212.
20. Barault L, Charon-Barra C, Jooste V, de la Vega MF, Martin L, Roignot P, Rat P, Bouvier AM, Laurent-Puig P, Faivre J, Chapusot C, Piard F. Hypermethylator phenotype in sporadic colon cancer: study on a population-based series of 582 cases. Cancer Res 2008;68:8541-8546.
21. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, Kang GH, Widschwendter M, Weener D, Buchanan D, Koh H, Simms L, Barker M, Leggett B, Levine J, Kim M, French AJ, Thibodeau SN, Jass J, Haile R, Laird PW. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. Nat Genet 2006;38:787-793.
22. Chung DC. The genetic basis of colorectal cancer: insights into critical pathways of tumorigenesis. Gastroenterology 2000;119:854-865.
23. Miyaki M, Iijima T, Kimura J, Yasuno M, Mori T, Hayashi Y, Koike M, Shitara N, Iwama T, Kuroki T. Frequent mutation of beta-catenin and APC genes in primary colorectal tumors from patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Cancer Res 1999;59:4506-4509.
24. Samowitz WS, Powers MD, Spirio LN, Nollet F, van Roy F, Slattery ML. Beta-catenin mutations are more frequent in small colorectal adenomas than in larger adenomas and invasive carcinomas. Cancer Res 1999;59:1442-1444.
25. Chittenden TW, Howe EA, Culhane AC, Sultana R, Taylor JM, Holmes C, Quackenbush J. Functional classification analysis of somatically mutated genes in human breast and colorectal cancers. Genomics 2008;91:508-511.
26. Grady WM, Myeroff LL, Swinler SE, Rajput A, Thiagalingam S, Lutterbaugh JD, Neumann A, Brattain MG, Chang J, Kim SJ, Kinzler KW, Vogelstein B, Willson JK, Markowitz S. Mutational inactivation of transforming growth factor beta receptor type II in microsatellite stable colon cancers. Cancer Res 1999;59:320-324.
27. Grady WM, Rajput A, Myeroff L, Liu DF, Kwon K, Willis J, Markowitz S. Mutation of the type II transforming growth factor-beta receptor is coincident with the transformation of human colon ad-

enomas to malignant carcinomas. Cancer Res 1998;58:3101-3104.
28. Markowitz S, Wang J, Myeroff L, Parsons R, Sun L, Lutterbaugh J, Fan RS, Zborowska E, Kinzler KW, Vogelstein B. Inactivation of the type II TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. Science 1995;268:1336-1338.
29. Tanaka T, Watanabe T, Kazama Y, Tanaka J, Kanazawa T, Kazama S, Nagawa H. Loss of Smad4 protein expression and 18qLOH as molecular markers indicating lymph node metastasis in colorectal cancer--a study matched for tumor depth and pathology. J Surg Oncol 2008;97:69-73.
30. Alhopuro P, Alazzouzi H, Sammalkorpi H, Dávalos V, Salovaara R, Hemminki A, Järvinen H, Mecklin JP, Schwartz S Jr, Aaltonen LA, Arango D. SMAD4 levels and response to 5-fluorouracil in colorectal cancer. Clin Cancer Res 2005; 1;11:6311-6316. doi:10.1053/j.gastro.2005.06.066 http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2005.06.066 doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-0244 http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-0244
31. Boulay JL, Mild G, Lowy A, Reuter J, Lagrange M, Terracciano L, Laffer U, Herrmann R, Rochlitz C. SMAD4 is a predictive marker for 5-fluorouracil-based chemotherapy in patients with colorectal cancer. Br J Cancer 2002;87:630-634.
32. Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. Nat Rev Cancer, 2003;3:11-22.
33. Artale S, Sartore-Bianchi A, Veronese SM, Gambi V, Sarnataro CS, Gambacorta M, Lauricella C, Siena S. Mutations of KRAS and BRAF in primary and matched metastatic sites of colorectal cancer. J Clin Oncol 2008; 26:4217-4219 doi:10.1200/JCO.2008.18.7286 http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2008.18.7286 doi:10.1200/JCO.2008.20.2358 http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2008.20.2358
34. Zauber P, Sabbath-Solitare M, Marotta SP, Bishop DT. Molecular changes in the Ki-ras and APC genes in primary colorectal carcinoma and synchronous metastases compared with the findings in accompanying adenomas. Mol Pathol 2003;56:137-140.
35. Rajagopalan H, Bardelli A, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status, Nature 2002;418:934.
36. Lubomierski N, Plotz G, Wormek M, Engels K, Kriener S, Trojan J, Jungling B, Zeuzem S, Raedle J. BRAF mutations in colorectal carcinoma suggest two entities of microsatellite-unstable tumors. Cancer 2005;104:952-961.
37. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, Yan H, Gazdar A, Powell SM, Riggins GJ, Willson JK, Markowitz S, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. Science 2004;304:554.
38. Danielsen SA, Lind GE, Bjørnslett M, Meling GI, Rognum TO, Heim S, Lothe RA. Novel mutations of the suppressor gene PTEN in colorectal carcinomas stratified by microsatellite instability- and TP53 mutation- status. Hum Mutat. 2008;29:252-262.
39. Razis E, Briasoulis E, Vrettou E, Skarlos DV, Papamichael D, Kostopoulos I, Samantas E, Xanthakis I, Bobos M, Galanidi E, Bai M, Gikonti I, Koukouma A, Kafiri G, Papakostas P, Kalogeras KT, Kosmidis P, Fountzilas G. Potential value of PTEN in predicting cetuximab response in colorectal cancer: an exploratory study. BMC Cancer 2008; 8:234. doi:10.1186/1471-2407-8-234 http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-8-234
40. Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, Veronese S, Nichelatti M, Artale S, Di Nicolantonio F, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. Cancer Res 2009;69:1851-1857.
41. Baudhuin LM, Burgart LJ, Leontovich O, Thibodeau SN. Use of microsatellite instability and immunohistochemistry testing for the identification of individuals at risk for Lynch syndrome. Fam Cancer 2005;4:255-265.
42. Shia J. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry. J Mol Diagn 2008;10:293-300.
43. Dundar M, Caglayan AO, Saatci C, Karaca H, Baskol M, Tahiri S, Ozkul Y. How the I1307K adenomatous polyposis coli gene variant contributes in the assessment of risk of colorectal cancer, but not stomach cancer, in a Turkish population. Cancer Genet Cytogenet 2007;177:95-97.
44. Cacina C, Yaylim-Eraltan I, Arikan S, Saglam EK, Zeybek U, Isbir T. Association between CDKN1A Ser31Arg and C20T gene polymorphisms and colorectal cancer risk and prognosis. In Vivo, 2010; 24:179-83.
45. Arıkan S, Cacina C, Guler E, Culcu S, Tuna G, Yaylım-Eraltan I. The effects of NOS3 Glu298Asp variant on colorectal cancer risk and progression in Turkish population. Mol Biol Rep. 2011.
46. Canbay E, Cakmakoglu B, Zeybek U, Sozen S, Cacina C, Gulluoglu M, Balik E, Bulut T, Yamaner S, Bugra D. Association of APE1 and hOGG1 polymorphisms with colorectal cancer risk in a Turkish population. Curr Med Res Opin 2011;27:1295-1302.
47. Canbay E, Ozturk O, Bugra D, Yamaner S, Kahraman OT, Seyhan MF, Gulluoglu M, Balik E, Bulut T. Kolorektal kanser riski ile PTEN ve HER2 polimorfizmi arasındaki ilişki. Sözlü bildiri. 13. Ulusal Kolon ve Rektum Cerrahisi Kongresi, 2011
48. Smith RA, Cokkinides V, Brooks D, Saslow D, Shah M, Brawley OW. Cancer screening in the United States: a review of current American Cancer Society guidelines and issues in cancer screening. CA Cancer J Clin 2010;60:99-119.
49. Ahlquist DA. Molecular detection of colorectal neoplasia. Gastroenterology 2010;138:2127-39.
50. Osborn NK, Ahlquist DA. Stool screening for colorectal cancer: molecular approaches. Gastroenterology 2005;128:192-206.
51. Itzkowitz SH, Jandorf L, Brand R, Rabeneck L, Schroy PC 3rd, Sontag S, Johnson D, Skoletsky J, Durkee K, Markowitz S, Shuber A. Improved fecal DNA test for colorectal cancer screening. Clin Gastroenterol Hepatol 2007; 5:111-117. doi:10.1016/j.cgh.2006.10.006 http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2006.10.006
52. Itzkowitz S, Brand R, Jandorf L, Durkee K, Millholland J, Rabeneck L, Schroy PC 3rd, Sontag S, Johnson D, Markowitz S, Paszat L, Berger BM . A simplified, noninvasive stool DNA test for colorectal cancer detection. Am J Gastroenterol 2008;103:2862-2870.
53. Bertagnolli MM, Redston M, Compton CC, Niedzwiecki D, Mayer RJ, Goldberg RM, Colacchio TA, Saltz LB, Warren RS. Microsatellite instability and loss of heterozygosity at chromosomal location 18q: prospective evaluation of biomarkers for stages II and III colon cancer--A Study of CALGB 9581 and 89803. J Clin Oncol 2011; 10;29:3153-3162. doi:10.1200/JCO.2010.33.0092 http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2010.33.0092 doi:10.1200/JCO.2010.32.5357 http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2010.32.5357
54. Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, Yan P, Fiocca R, Klingbiel D, Dietrich D, Biesmans B, Bodoky G, Barone C, Aranda E, Nordlinger B, Cisar L, Labianca R, Cunningham D, Van Cutsem E, Bosman F. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. J Clin Oncol 2010;28:466-474.
55. Fuchs C, Ogino S, Meyerhardt JA. KRAS mutation, cancer recurrence, and patient survival in stage III colon cancer: findings from CALGB 89803. J Clin Oncol 2009;27:4037.
56. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Shima K, Irahara N, Kure S, Chan AT, Engelman JA, Kraft P, Cantley LC, Giovannucci EL, Fuchs CS. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. J Clin Oncol 2009;27:1477-1484.
57. Richman SD, Seymour MT, Chambers P, Elliott F, Daly CL, Meade AM, Taylor G,

Barrett JH, Quirke P. KRAS and BRAF mutations in advanced colorectal cancer are associated with poor prognosis but do not preclude benefit from oxaliplatin or irinotecan: results from the MRC FOCUS trial. J Clin Oncol 2009;27:5931-5937.
58. Tol J, Nagtegaal ID, Punt CJ. BRAF mutation in metastatic colorectal cancer. N Engl J Med 2009;361:98-99.
59. Zlobec I, Kovac M, Erzberger P, Molinari F, Bihl MP, Rufle A, Foerster A, Frattini M, Terracciano L, Heinimann K, Lugli A. Combined analysis of specific KRAS mutation, BRAF and microsatellite instability identifies prognostic subgroups of sporadic and hereditary colorectal cancer. Int J Cancer 2010;127:2569-2575.
60. Richman SD, Seymour MT, Chambers P, Elliott F, Daly CL, Meade AM, Taylor G, Barrett JH, Quirke P. KRAS and BRAF mutations in advanced colorectal cancer are associated with poor prognosis but do not preclude benefit from oxaliplatin or irinotecan: results from the MRC FOCUS trial. J Clin Oncol 2009;27:5931-5937.
61. Bardelli A, Siena S. Molecular mechanisms of resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancer. J Clin Oncol 2010;28:1254-1261.
62. Meyerhardt JA, Mayer RJ. Systemic therapy for colorectal cancer. N Engl J Med 2005;352:476-487.
63. Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A, Hartmann JT, Aparicio J, de Braud F, Donea S, Ludwig H, Schuch G, Stroh C, Loos AH, Zubel A, Koralewski P. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol 2009;27:663-671.
64. Van Cutsem E, Siena S, Humblet Y, Canon JL, Maurel J, Bajetta E, Neyns B, Kotasek D, Santoro A, Scheithauer W, Spadafora S, Amado RG, Hogan N, Peeters M. Open-label phase II trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy refractory metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol 2007;25:1658-1664.
65. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use May 2008 Plenary Meeting monthly report.2008.
66. Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, Hamilton SR, Hammond EH, Hayes DF, McAllister PK, Morton RF, Schilsky RL. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy. J Clin Oncol 2009;27:2091-2096.
67. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology: Colon Cancer V.2.2011
68. Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol 2008;26:5705-5712.
69. Loupakis F, Ruzzo A, Cremolini C, Vincenzi B, Salvatore L, Santini D, Masi G, Stasi I, Canestrari E, Rulli E, Floriani I, Bencardino K, Galluccio N, Catalano V, Tonini G, Magnani M, Fontanini G, Basolo F, Falcone A, Graziano F. KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer. Br J Cancer 2009;101:715-721.
70. Tol J, Nagtegaal ID, Punt CJ. BRAF mutation in metastatic colorectal cancer. N Engl J Med 2009;361:98-99.
71. Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G, Buc E, Bachet JB, Lecomte T, Rougier P, Lievre A, Landi B, Boige V, Ducreux M, Ychou M, Bibeau F, Bouché O, Reid J, Stone S, Penault-Llorca F. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer. J Clin Oncol 2009;27:5924-5930.
72. Jhawer M, Goel S, Wilson AJ, Montagna C, Ling YH, Byun DS, Nasser S, Arango D, Shin J, Klampfer L, Augenlicht LH, Perez-Soler R, Mariadason JM. PIK3CA mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab. Cancer Res 2008;68:1953-1961.
73. Prenen H, De Schutter J, Jacobs B, De Roock W, Biesmans B, Claes B, Lambrechts D, Van Cutsem E, Tejpar S. PIK3CA mutations are not a major determinant of resistance to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab in metastatic colorectal cancer. Clin Cancer Res 2009;15:3184-3188.
74. Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Nichelatti M, Molinari M, De Dosso S, Saletti P, Martini M, Cipani T, Marrapese G, Mazzucchelli L, Lamba S, Veronese S, Frattini M, Bardelli A. Multideterminants analysis of molecular alterations for predicting clinical benefit to EGFR-targeted monoclonal antibodies in colorectal cancer. PLoS One 2009;4:e-7287.
75. Shia J, Klimstra DS, Li AR, Qin J, Saltz L, Teruya-Feldstein J, Akram M, Chung KY, Yao D, Paty PB, Gerald W, Chen B. Epidermal growth factor receptor expression and gene amplification in colorectal carcinoma: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization study. Mod Pathol 2005;18:1350-1356.
76. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, Hamilton SR, Laurent-Puig P, Gryfe R, Shepherd LE, Tu D, Redston M, Gallinger S. Tumor microsatellite instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. N Engl J Med 2003;349:247-257.
77. Kim GP, Colangelo LH, Wieand HS, Paik S, Kirsch IR, Wolmark N, Allegra CJ. Prognostic and predictive roles of high-degree microsatellite instability in colon cancer: a National Cancer Institutee National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Collaborative Study. J Clin Oncol 2007;25:767-772.
78. Liang JT, Huang KC, Lai HS, Lee PH, Cheng YM, Hsu HC, Cheng AL, Hsu CH, Yeh KH, Wang SM, Tang C, Chang KJ. High-frequency microsatellite instability predicts better chemosensitivity to high-dose 5-fluorouracil plus leucovorin chemotherapy for stage IV sporadic colorectal cancer after palliative bowel resection. Int J Cancer 2002;101:519-525.
79. 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;25:3456-3461.
80. Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, Ueki T, Satriano R, Haller DG, Benson AB 3rd, Hamilton SR. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. N Engl J Med 2001;344:1196-1206.
81. Braun MS, Richman SD, Quirke P, Daly C, Adlard JW, Elliott F, Barrett JH, Selby P, Meade AM, Stephens RJ, Parmar MK, Seymour MT. Predictive biomarkers of chemotherapy efficacy in colorectal cancer: results from the UK MRC FOCUS trial. J Clin Oncol 2008;26:2690-2698.
82. Ezzeldin HH, Diasio RB. Predicting fluorouracil toxicity: can we finally do it? J Clin Oncol 2008;26:2080-2082.
83. Schwab M, Zanger UM, Marx C, Schaeffeler E, Klein K, Dippon J, Kerb R, Blievernicht J, Fischer J, Hofmann U, Bokemeyer C, Eichelbaum M. Role of genetic and nongenetic factors for fluorouracil treatment-related severe toxicity: a prospective clinical trial by the German 5-FU Toxicity Study Group. J Clin Oncol 2008;26:2131-2138.
84. Hoskins JM, Goldberg RM, Qu P, Ibrahim JG, McLeod HL. UGT1A1*28 genotype and irinotecan-induced neutropenia: dose matters. J Natl Cancer Inst 2007;99:1290e5.
85. Palomaki GE, Bradley LA, Douglas MP, Kolor K, Dotson WD. Can UGT1A1 genotyping reduce morbidity and mortality in patients with metastatic colorectal cancer treated with irinotecan? An evidence-based review. Genet Med 2009;11:21-34.
86. Zambon A, Ménard D, Suijkerbuijk BM, Niculescu-Duvaz I, Whittaker S, Niculescu-Duvaz D, Nourry A, Davies L, Manne HA, Lopes F, Preece N, Hedley D, Ogilvie LM, Kirk R, Marais R, Springer CJ. Novel hinge binder improves activity and pharmacokinetic properties of BRAF inhibitors. J Med Chem 2010;53:5639-5655.
87. Yuan TL, Cantley LC. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. Oncogene 2008;27:5497-5510.