

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GASTRİK, PANKREATİK VE KOLOREKTAL
ADENOKARSİNOMLARDA DAMAR İNVAZYONU VE
SERBEST TÜMÖR DEPOZİTLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİNDE TRANSGELİN, SMOOTHHELİN,
SMOOTH MUSCLE MYOSİN VE CD31 ANTİKORLARININ
KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. BETÜL ÖĞÜT**

**TEZ DANIŞMANI
YRD.DOÇ.DR. ÖZGÜR EKİNCİ**

**ANKARA
AĞUSTOS 2016**

TEŞEKKÜR

İhtisasım boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yetişmemde büyük katkıları bulunan başta tez hocam *Yrd.Doç.Dr. Özgür EKİNCİ* olmak üzere değerli hocalarım, *Prof.Dr. Ömer ULUOĞLU*, *Prof.Dr. Leyla MEMİŐ*, *Prof.Dr. Ayşe DURSUN*, *Prof.Dr. Gülen AKYOL*, *Prof.Dr. Aylar POYRAZ*, *Prof.Dr. Nalan AKYÜREK*, *Prof.Dr. Özlem ERDEM*, *Doç.Dr. İpek IŐIK GÖNÜL*, *Doç.Dr. Güldal ESENDAĞLI*, *Doç.Dr. Pınar UYAR GÖÇÜN*'e, daima birlikte çalışmaktan gurur duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma, tüm laboratuvar personeline, engin istatistik bilgilerini esirgemeyen *Doç.Dr. Bülent ÇELİK*'e, hayatını bana destek olmakla geçiren biricik eşim *Cihan Kamil ÖĞÜT*'e, bitanecik oğlum *Mehmet Kağan ÖĞÜT*'e, hep yanımda ve bana destek olan başta kardeşim *Begüm Ceren Çimer* olmak üzere canım aileme, en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
TABLolar.....	iv
KISALTMALAR.....	V
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kolorektal Adenokarsinom.....	3
2.2. Gastrik Adenokarsinom.....	8
2.3. Pankreas Adenokarsinomu.....	13
2.4. Ampulla Vateri Adenokarsinomu.....	17
2.5. Smoothelin.....	21
2.6. Transgelin.....	21
2.7. Düz Kas Myozini (SMM).....	22
2.8. CD31.....	23
2.9. Tümörlerde Venöz İnvazyon.....	25
2.10. Tümör Depozitleri.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Hastaların Seçimi.....	29
3.2. İncelenen Parametreler.....	29
3.3. İmmünohistokimyasal Yöntem.....	31
3.4. İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Değerlendirilmesi.....	32
3.5. İstatistiksel Analiz.....	33
3.6. Etik Kurul Onayı.....	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. Hastaların Demografik Özellikleri ve Tümörlerin Özellikleri.....	34
4.2. Seçilen Olası Venöz İnvazyon Odaklarının Özellikleri.....	36
4.3. Seçilen Olası Venöz İnvazyon Odaklarında İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Karşılaştırılması.....	39
5. TARTIŞMA.....	48

6. SONUÇLAR	58
7. KAYNAKLAR.....	60
8. ÖZET.....	89
9. SUMMARY.....	92



TABLolar

Tablo 1: Kolorektal adenokarsinomlarda TNM sınıflaması.....	5
Tablo 2: Kolorektal adenokarsinomlarda evreleme	6
Tablo 3: Gastrik adenokarsinomlarda TNM sınıflaması.....	10
Tablo 4: Gastrik adenokarsinomlarda evreleme.....	11
Tablo 5: Pankreas adenokarsinomlarında TNM sınıflaması	14
Tablo 6: Pankreas adenokarsinomlarında evreleme	15
Tablo 7: Ampulla Vateri adenokarsinomlarında TNM sınıflaması.....	19
Tablo 8: Ampulla Vateri adenokarsinomlarında evreleme	20
Tablo 9: Hastaların demografik özellikleri ve tümörlerin özellikleri.....	35
Tablo 10: Odak tiplerinin dağılımı	36
Tablo 11: Odak tiplerinin organlara göre dağılımı.....	37
Tablo 12: Odakların kolon ve mide duvarlarındaki yeri	38
Tablo 13: Tüm Vİ odaklarında SMM ve transgelin ile boyanma sonuçları.....	41
Tablo 14: Tüm Vİ odaklarında SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırılması	42
Tablo 15: "A" tipi odaklarda SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırılması	43
Tablo 16: "X" tipi odaklarda SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırılması	44
Tablo 17: "F" tipi odaklarda SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırılması	47

KISALTMALAR

SMM:	Smooth muscle myosin- Düz kas myozini
TNM:	Tümör- lenf bezi- metastaz
CAP:	College of American Pathologists
AJCC/UICC:	American Joint Committee on Cancer / Union International Against Cancer
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
TD:	Tümör depoziti
H&E:	Hematoksilen ve Eosin
SMV:	Süperior mezenterik ven
İMV:	İnferior mezenterik ven
DAB:	3,3'-diaminobenzidinin
GİS:	Gastrointestinal sistem
VI:	Venöz invazyon

1. GİRİŞ

Venöz invazyon (Vİ), tüm kanserler için iyi tanımlanmış bağımsız bir prognostik faktördür. Damar invazyonunun değerlendirilmesi, prognostik öneminin olması yanısıra evre I ve evre II hastalarda adjuvan kemoterapi ve/veya radyoterapi kararını yönlendirmesi açısından da oldukça önemlidir (1).

Tümörle infiltre olan damarın tespiti oldukça zor olabilmektedir. Tanıyı kolaylaştırmaya ve doğruluğu arttırmaya yönelik, endotel için immünohistokimyasal, venöz duvar için histokimyasal (elastin) yöntemler geliştirilmiştir.

Damar invazyonu ile ilgili çalışmalarda sorun doğrudan 'damar invazyonunun histopatolojik değerlendirilmesi' ile ilgilidir. Çünkü tanım olarak tümörün endotel ile dōşeli bir kanalda bulunması gerekmektedir. Fakat tümöre bağılı desmoplazi, fiksasyon artefaktı gibi faktörler yüzünden Vİ tanısı oldukça zor olabilmektedir. Ayrıca küçük damar invazyonlarında lenfatik veya postkapiller venül ayırımı konusunda gözlemciler arası farklılıklar olabilmektedir. Büyük damar invazyonlarında da (müsküler ven gibi) tümöral infiltrasyon yüzünden vasküler yapıyı göstermek oldukça zordur (2).

Damar invazyonunu değerlendirirken karşılaşılan bir diğer sorun da materyalin örneklenmesi ile ilişkilidir. Örneğin, bir çalışmada tümörün periferinden 2 bloğun takibe alınarak incelenmesi sonucu ektramural Vİ

saptanma olasılığı %59 iken, 5 bloğun takibe alınması ile bu oran %96'ya çıkmıştır (3).

Bu çalışmada pankreatik, gastrik ve kolorektal adenokarsinomlarda, intramural ve ektramural Vİ tanısında düz kas belirteçleri (SMM, transgelin ve smoothelin) ile endotel belirteçlerinin (CD31) birbirlerine üstünlükleri araştırılmıştır. Ayrıca kolorektal ve gastrik adenokarsinomlarda, hastaların sağ kalımını azalttığı (4) ve lokal nüksleri arttırdığı bilinen tümör depozitlerinde (5) Vİ'nin yeri araştırılmıştır. Bunu yaparken öncelikle tümör depozitleri 3'e ayrılmıştır: Organ periferindeki yağ doku içinde bulunan ve ana tümörden uzak serbest tümör depozitleri (F), tek kalmış arter yanındaki tümör odakları (A), ana tümörden uzak olmayan, ana kitlenin devamında yer alan, ancak etrafı eozinofilik bağ doku ile çevrelenmiş ve şimdiye kadar ne oldukları ortaya koyulmamış olan tümör odakları (X). Söz konusu harfler ile simgelenen odakların bu şekilde araştırılması kararı, ön araştırmamızdan kaynaklanmakta olup literatürde yoktur. Bu odaklarda kullanılan 4 belirtecin boyanma şiddeti değerlendirilerek kıyaslama yapılmıştır.

Tüm organ kanserlerinde Vİ değerlendirilirken endotel belirteçleri yerine düz kas belirteçlerinin kullanılmasının tanıyı kolaylaştıracağı, tanı doğruluğunu arttıracığı düşünülmektedir. Bu sayede yeterli tedavi ile hastaların prognozunun iyileştirilmesi ümit edilmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Kolorektal Adenokarsinom*

Tüm dünyada en sık tanı verilen 3. malignite olup, kanser sebebiyle meydana gelen ölümler arasında 4. sıradadır (6). Sağlık Bakanlığı 2010 verilerine göre ülkemizde erkeklerde 4. en sık, kadınlarda 3.en sık görülen kanserdir (7).

Primer tedavi yöntemi cerrahi rezeksiyondur. Genel sağkalım düşüktür. Küratif rezeksiyon sonrası bile hastaların ancak yarısı hayattadır (8).

Kolorektal adenokarsinomlu hastaların postoperatif yönetimi, rezeksiyon materyalinin ayrıntılı ve doğru patolojik incelemesi sonucu verilen tümör evresine bağlıdır. Lokalize görünen, cerrahi olarak tümörün çıkarılabildiği hastalarda, tümörün yaygınlığı, tümör derecesi, cerrahi sınırların durumu, vasküler invazyon varlığı, tümöre lenfoid cevap ve lenf nodu metastazı gibi prognostik histopatolojik özellikler mevcuttur (2, 9, 10).

Kolorektal adenokarsinomlarda, günümüzde en önemli ve bağımsız prognostik faktör, cerrahi sonrası yapılan tümör- lenf bezi- metastaz (TNM) evrelemesidir (11). Her ne kadar TNM sistemi, hastaların evrelemesini ve spesifik tedaviler için seçilmesini sağlasa da, bu sisteme göre aynı evrede olan hastaların farklı klinik gidiş göstermeleri, yeni prognostik biyolojik belirteçlerin gerekliliğini ortaya koymuştur.

AJCC/UICC (American Joint Committee on Cancer/ Union International Against Cancer) tarafından 2009 yılında yayınlanan 7. baskıda bulunan TNM kategorileri Tablo 1’de, evreleme sistemi ise Tablo 2’de sunulmuştur (12).

Kolorektal adenokarsinomlarda Vİ, hematojen hastalık nüksünün ve sağ kalımın göstergesi olan, iyi tanımlanmış bir prognostik faktördür (13-25). Bu yüzden de College of American Pathologists’ (CAP) kolorektal kanser raporlama protokolünün zorunlu bir parçasıdır. Fakat konvansiyonel hematoksilen ve eosin (H&E) boyalı preparatlarda lenfatik invazyon ve “küçük damar invazyonu” ayırımının yapılması oldukça zor olduğundan, bu iki antite birlikte “lenfovasküler invazyon” başlığı altında toplanmıştır (26).

CAP kolorektal kanser raporlama protokolünde, arter ve arteriollere bitişik tümör odakları (“orphan arteriol” görünümü) ve mürkularis propriadan perikolik yağ dokuya uzanan tümör nodülleri gibi histopatolojik bulgular görüldüğünde elastin boyası yapılması önerilmektedir (27). Elastin boyasının kullanılması, Vİ tanısını 2-3 kat arttırmakta olup kolorektal rezeksiyon spesmenlerinde kullanılması önerilmektedir (28).

Vİ, ektramural (mürkularis proprianın dışında) ya da intramural (submukoza ya da mürkularis propria) olabilir. Ektramural venöz invazyonun prognostik açıdan daha önemli olduğu düşünülse de (29) venöz invazyonun anatomik lokalizasyonun (ektramural ya da intramural) önemi tam olarak bilinmemektedir.

Tablo 1: Kolorektal adenokarsinomlarda TNM sınıflaması

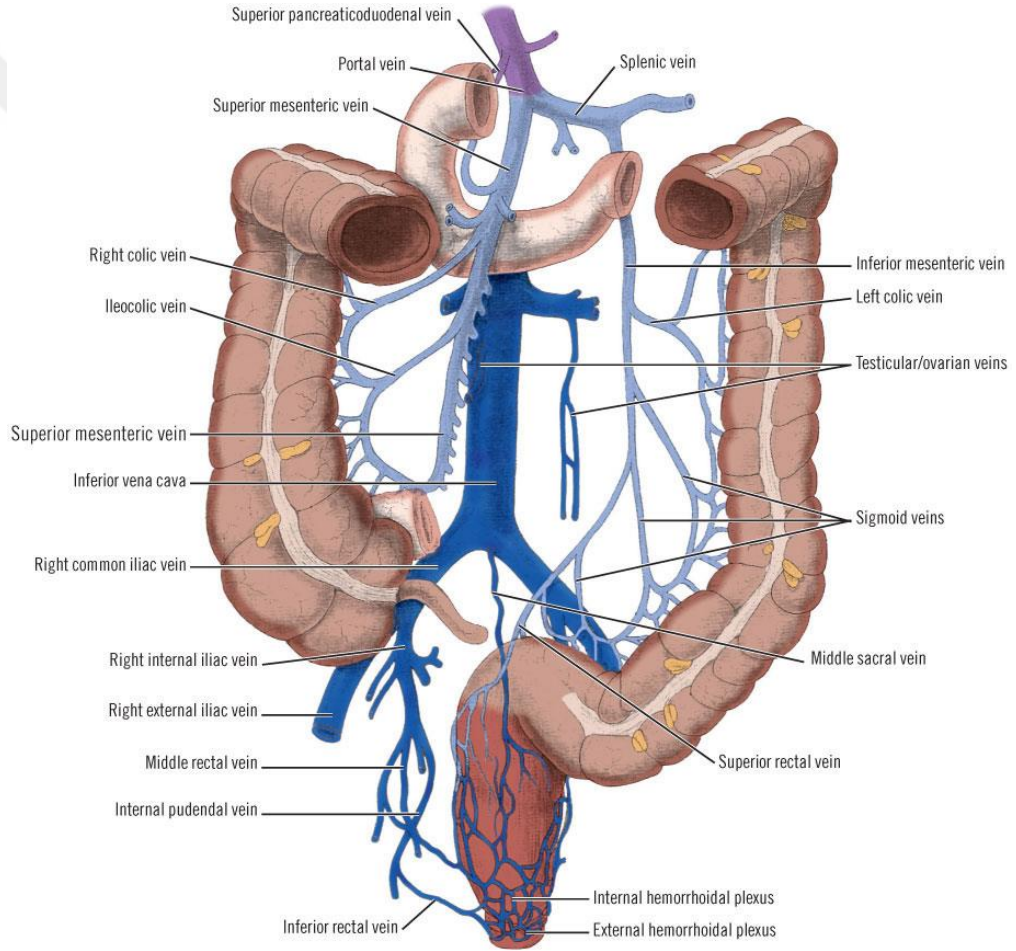
pT	Primer tümör
pTx	Primer tümör değerlendirilememektedir.
pT0	Primer tümör bulgusu bulunmamaktadır.
pTis	Karsinoma in situ: İntraepitelyal tümör ya da lamina propria/ müskülaris propria invazyonu
pT1	Tümör submukozaya infiltridir.
pT2	Tümör, müskülaris propriaya infiltridir.
pT3	Tümör, müskülaris propriayı aşmış, submukozaya ya da periton ile örtülü olmayan perikolik veya perirektal dokulara ulaşmıştır.
pT4a	Tümör, visseral peritona infiltridir.
pT4b	Tümör, diğer organları, kolorektumun diğer segmentini invaze etmiş ve/veya perforasyona neden olmuştur.
N	Bölgesel lenf nodları
pNx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilememektedir.
pN0	Bölgesel lenf nodu metastazı bulunmamaktadır.
pN1	Bölgesel lenf nodlarının 1-3'ünde metastaz mevcuttur.
pN2	Bölgesel lenf nodlarının 4 ya da daha fazlasında metastaz mevcuttur.
M	Uzak metastaz
Mx	Uzak metastaz değerlendirilememektedir.
M0	Uzak metastaz mevcut değildir.
M1	Uzak metastaz mevcuttur.

Tablo 2: Kolorektal adenokarsinomlarda evreleme

Evre	T	N	M
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Evre IIA	T3	N0	M0
Evre IIB	T4	N0	M0
Evre IIIA	T1, T2	N1	M0
Evre IIIB	T3, T4	N1	M0
Evre IIIC	Herhangi bir T	N2	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

Kolonun venöz drenajı, primer olarak süperior mezenterik ven (SMV) ve inferior mezenterik ven (İMV) yoluyla olur. SMV, çekum, çıkan kolon ve transvers kolonu drene ederek portal veni oluşturmak üzere splenik ven ile birleşir (30). İMV, inen kolon, sigmoid kolon ve üst rektumu drene ederek splenik vene dökülür. Rektumun venöz drenajı ise portal ve sistemik/ kaval sisteme olur. Üst ve

orta rektum, superior rektal ven ile drene edilir, bu ven de İMV ile portal sisteme dökülür. Alt rektum ve anal kanalın başlangıcı orta rektal venle drene edilirken bu da kaval sisteme internal iliak venler yoluyla dökülürler. İinferior rektal venler, alt anal kanalı drene ederek pudental venlere dökülerek bunlar da internal iliak venlerce kaval sisteme iletilir (Resim 1).



Resim 1: Kolorektumun venöz drenajı

2.2. *Gastrik Adenokarsinom*

Tüm dünyada en sık tanı verilen 5. malignite olup (2012 yılında 952,000 yeni tanı) kanser sebebiyle meydana gelen ölümler arasında 3.sıradadır (31). Sağlık Bakanlığı 2010 verilerine göre ülkemizde erkeklerde 5. en sık, kadınlarda 4.en sık görülen kanserdir (7).

Gastrik adenokarsinom, genellikle 30 yaşın üzerindeki hastalarda görülür. Genç hastalarda görüldüğünde, tümör daha sık olarak “diffüz” tiptedir ve ailesel sebepler akla gelmelidir (32). Etiyolojide sigara (33), beslenme alışkanlıkları (34, 35), safra reflüsü (36, 37), *Helicobacter pylori* enfeksiyonu (38-41) yer alır. Antioksidan tedavinin özellikle 55 yaşın altındaki hastalarda mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (42).

Tüm faktörler içinde tümörün evresi en önemli prognostik faktördür. Tümörün invazyon derinliği de evresini belirler (43). Bunun dışında tümörün yeri (44), cerrahi sınırların durumu, venöz, lenfatik ve nöral invazyon (45-47), TNM evresi (1), tümörün derecesi patolojik prognostik faktörlerdir.

Tümör mortalitesini ve nüksünü belirleyen en önemli faktör tümör hücrelerinin sistemik yayılımıdır. Lenfovasküler invazyon kan damarı ya da lenfatik invazyon olarak da adlandırılabilir. Ayrıca, yüksek oranda nüks ve kötü prognozla ilişkili patolojik bir bulgudur (48-52). Bu yüzden TNM evrelemesi ve lenfovasküler invazyon bilgisinin birlikteliği hastaların prognozları hakkında daha doğru bilgi verebilir (53).

AJCC/UICC tarafından 2009 yılında yayınlanan 7. baskıya ait TNM kategorileri Tablo 3'te, evreleme sistemi ise Tablo 4'de sunulmuştur (12).

Gastrik adenokarsinomlarda küçük gruplar halinde yapılan çalışmalarda lenfovasküler invazyon varlığının lenf nodu metastazından bağımsız olarak düşük sağ kalım ve tümör nüksü ile korele olduğu gösterilmiştir (54-59).

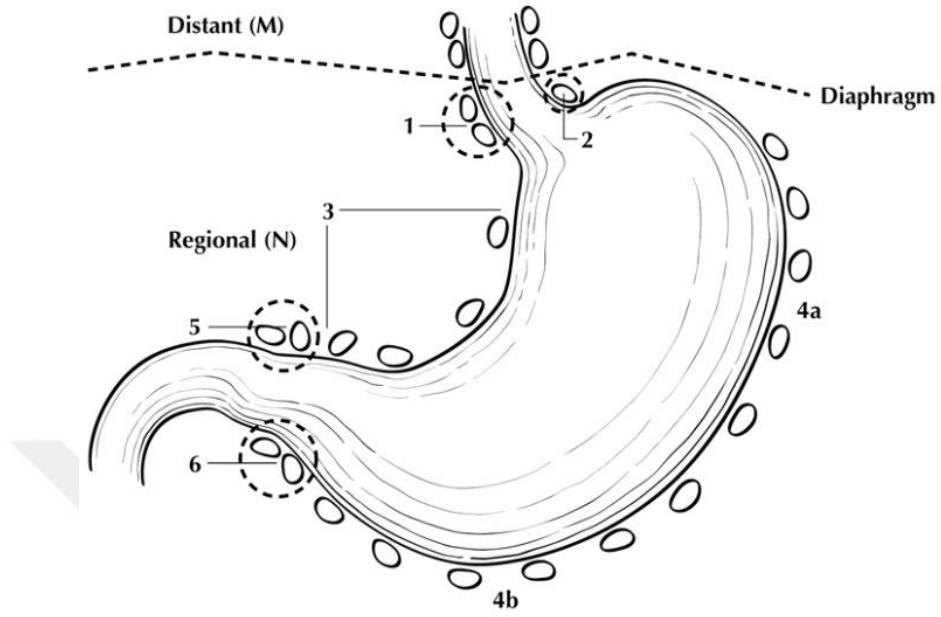
Mide, *curvatura ventriculi minör*'de *a.gastrica dextra* ve *sinistra*, *curvatura ventriculi major*'de *a.gastroepiploicae dextra* ve *sinista*, *fundusta aa.gastricae breves*'ten beslenir. Bu arterlerden ayrılan dallar bir süre *tunica serosada* uzanarak *mükülaris propriaya* dallar verdikten sonra *tunica submucosada* zengin bir damar ağı oluştururlar. Mukozadan başlayan venler arterlere eşlik ederek, splenik, superior mezenterik ve portal vene doğrudan açılırlar. Sol gastrik artere karşılık gelen koroner ven (sol gastrik ven) ise portal hipertansiyonda kaval sistemle bağlantıyı sağlayan ve varis oluşumuna yol açan önemli yapı olarak karşımıza çıkar (Resim 3).

Tablo 3: Gastrik adenokarsinomlarda TNM sınıflaması

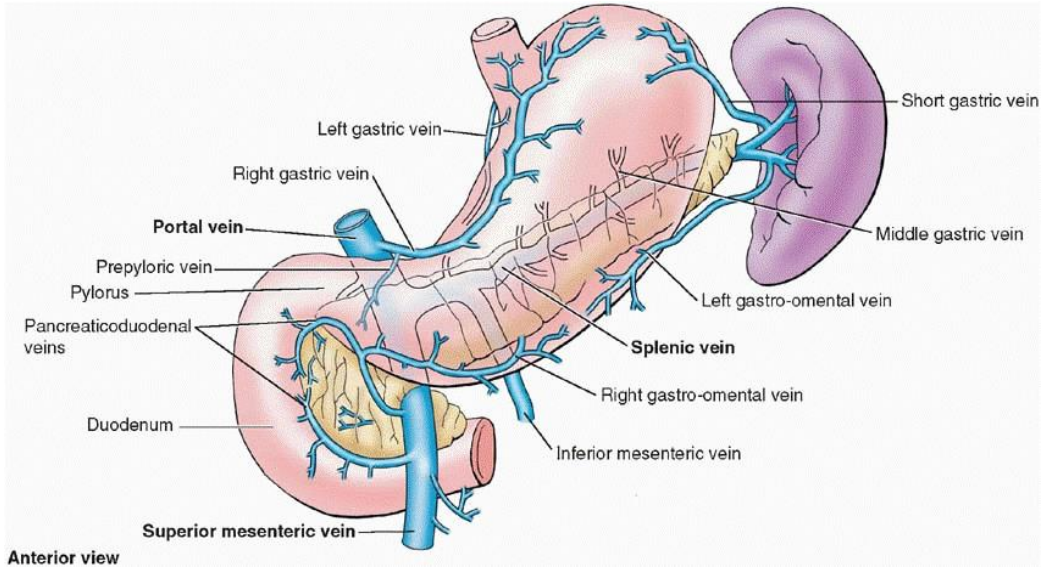
pT	Primer tümör
pTx	Primer tümör değerlendirilememektedir.
pT0	Primer tümör lehine bulgu mevcut değildir.
pTis	Karsinoma in situ (Yüksek dereceli displazi): Lamina propria invazyonu olmadan intraepitelyal tümör
pT1a	Tümör, lamina propriaya infiltridir.
pT1b	Tümör, submukozaya infiltridir.
pT2	Tümör, mükölaris propriaya infiltridir.
pT3	Tümör, seroza ya da çevre doku invazyonu olmadan subserozal yağ dokuya infiltridir.
pT4a	Tümör serozaya (visseral periton) infiltridir.
pT4b	Tümör, dalak, kolon, karaciğer, diyafram, pankreas, karın duvarı, böbrek, ince barsak gibi çevre yapılara infiltridir.
N	Bölgesel lenf nodları (Şekil 2)
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilememektedir.
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yoktur.
N1	1 veya 2 adet perigastrik lenf nodu metastazı mevcuttur.
N2	2 - 6 adet perigastrik lenf nodu metastazı mevcuttur.
N3	>6 adet perigastrik lenf nodu metastazı mevcuttur.
M	Uzak metastaz
Mx	Uzak metastaz değerlendirilememektedir.
M0	Uzak metastaz mevcut değildir.
M1	Uzak metastaz mevcuttur.

Tablo 4: Gastrik adenokarsinomlarda evreleme

Evre	T	N	M
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1	N0	M0
Evre IB	T2	N0	M0
	T1	N1	M0
Evre IIA	T3	N0	M0
	T2	N1	M0
	T1	N2	M0
Evre IIB	T4a	N0	M0
	T3	N1	M0
	T2	N2	M0
	T1	N3	M0
Evre IIIA	T4a	N1	M0
	T3	N2	M0
	T2	N3	M0
Evre IIIB	T4b	N0, N1	M0
	T4a	N2	M0
	T3	N3	M0
Evre IIIC	T4a	N3	M0
	T4b	N2, N3	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1



Resim 2: : Midenin bölgesel lenf nodları



Resim 3: Midenin venöz drenajı

2.3. Pankreas Adenokarsinomu

Tüm dünyada en sık tanı verilen 13. malignite olup (2015 yılında 367,411 yeni tanı) kanser sebebiyle meydana gelen ölümler arasında 4. sıradadır (2015 yılında 359,335 ölüm) (60). Hastaların %80'inde tanı anında lokal ileri evre ya da metastatik adenokarsinom vardır (61). Beş yıllık sağ kalımı %5'tir (62).

Pankreas adenokarsinomunun; erkek cinsiyet, yaş, alkol ve sigara kullanımı, obezite, kronik pankreatit, genetik yatkınlık, beslenme alışkanlıkları ve diabetes mellitus gibi iyi tanımlanmış risk faktörleri vardır (63).

Pankreas adenokarsinomuna sahip hastaların ortalama yaşam süresi oldukça kısadır. Tümörün histolojik derecesi (64, 65), yerleşim yeri, tedavi cevabı (66, 67), cerrahi sınırların durumu (68) venöz ya da lenfatik damar invazyonu ve perinöral invazyon (69) prognostik faktörler arasındadır. Pankreas karsinomunda da en önemli prognostik faktör TNM evresi ve tümörün derecesidir.

AJCC/UICC tarafından 2009 yılında yayınlanan 7. baskıya göre TNM kategorileri Tablo 5'te, evreleme sistemi ise Tablo 6'de sunulmuştur (12).

Pankreas, üst abdomende midenin arkasında yer alan retroperitoneal bir organdır. Duodenuma sindirim enzimleri salgıladığından GİS'in bir parçası olması yanında kana hormon salgıladığından endokrin sistemin de bir parçasıdır.

Tablo 5: Pankreas adenokarsinomlarında TNM sınıflaması

pT	Primer tümör
pTx	Primer tümör değerlendirilememektedir.
pT0	Primer tümör lehine bulgu mevcut değildir.
pTis	Karsinoma in situ
pT1	Tümör, pankreasa sınırlı ve en büyük boyutu 2 cm ya da daha azdır.
pT2	Tümör, pankreasa sınırlı ve en büyük boyutu 2 cm'den fazladır.
pT3	Tümör, pankreas dışına infiltridir fakat çölyak aksis ya da SMA tutulumu mevcut değildir.
pT4	Çölyak aksis ya da mezenterik arter tutulumu mevcuttur.
N	Bölgesel lenf nodları
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilememektedir.
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yoktur.
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı vardır.
M	Uzak metastaz
Mx	Uzak metastaz değerlendirilememektedir.
M0	Uzak metastaz mevcut değildir.
M1	Uzak metastaz mevcuttur.

Tablo 6: Pankreas adenokarsinomlarında evreleme

Evre	T	N	M
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1	N0	M0
Evre IB	T2	N0	M0
Evre IIA	T3	N0	M0
Evre IIB	T1, T2, T3	N1	M0
Evre III	T4	Herhangi bir N	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

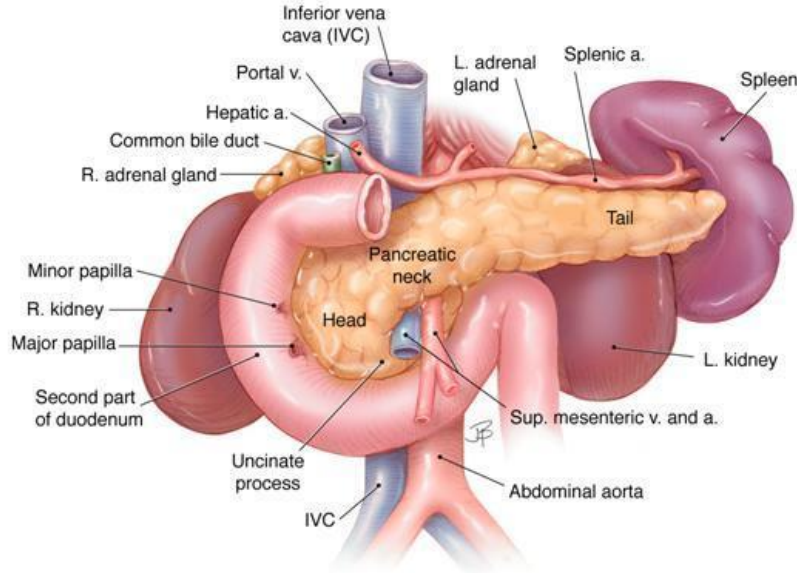
Ekzokrin pankreas: Pankreatik kitlelerin %95'inden fazlasını oluşturur. Asiner ve duktal hücreler, bunları birbirine bağlayan bağ doku, damarlar ve sinirler ekzokrin pankreasın parçalarıdır.

Endokrin pankreas: Pankreasın bu bileşeni kana insülin, glukagon, somatostatin ve pankreatik polipeptit salgılar. Langerhans adacıkları pankreatik kitlenin %1-2'sini oluşturur.

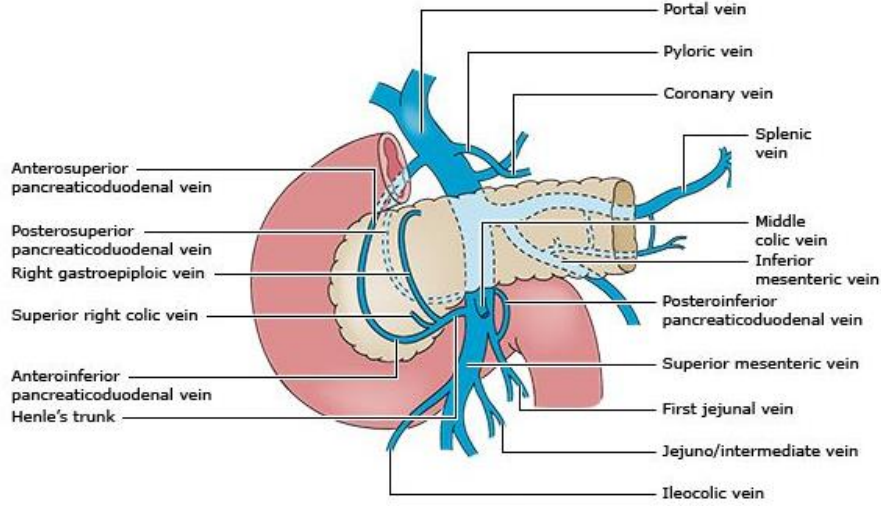
Pankreas; baş, gövde ve kuyruktan oluşur. Pankreas başı duodenumun hemen yanında olup pankreas kuyruğu da dalak hilusuna uzanır (Resim 4). Aortun önünde uzanan pankreas bölümü bazen diğer bölümlerden daha ince olur ve “pankreasın boyun kısmı” olarak tanımlanır. Ortak safra kanalı pankreas başından geçerek duodenum yakınlarında pankreasın ana duktusu ile birleşerek ampulla Vateri'yi oluşturur (70).

Pankreas, arteriel kanı çölyak arter ve süperior mezenterik arterden alır. Splenik arter pankreas süperior kenarından geçer ve pankreatik dallar vererek pankreasın boynu, gövdesi ve kuyruğunu besler.

Süperior ve inferior pankreatikoduodenal arterler pankreasın anterior ve posteriorundan geçerek pankreas başını besler (71). Pankreasın gövde ve boyun bölümleri splenik vene drene olurken pankreas başı süperior mezenterik ven ve portal vene drene olur (Resim 5).



Resim 4: Pankreas anatomisi



Resim 5: Pankreasın venöz drenajı

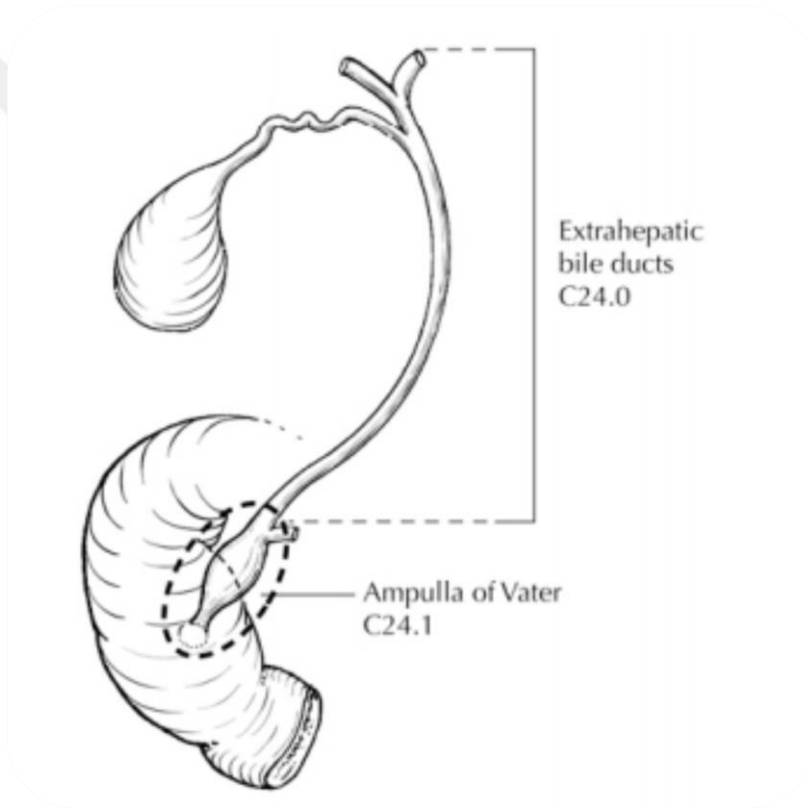
2.4. Ampulla Vateri Adenokarsinomu

Ampulla Vateri, distal ortak safra kanalı ve ana pankreatik kanalın birleşiminden oluşan kompleks bir yapıdır. Duodenal duvarda transvers olarak ilerler ve duodenal lümene mukozada hafif kabarıklık yaparak (duodenal papilla) açılır (Resim 6).

Ampulla, pankreatiko-biliyer epitelyum ile, duodenal papilla ise intestinal tip epitel ile döşelidir. Oddi sfinkteri de ampulla Vateri'nin bir parçasıdır ve düz kas ile çevrilidir.

Ampuller adenokarsinomlar, tüm gastrointestinal sistem malignitelerinin sadece %0,2'sini oluştururlar. Ampulladan ya da papillanın duodenal tarafından (periampuller bölge) gelişebilirler. Bu yüzden tümörler histopatolojik olarak biliyer ve/veya intestinal tipte olabilirler. Tümörün orijinini belirlemek oldukça

zor, hatta imkânsız olabilir. Bu bölgenin tümörleri biliyer tıkanma ve pankreatite yol açarak erken tanı alır. Tedavi edilebilir tümörler olduklarından diğer periampuller tümörlere oranla daha iyi prognoza sahiplerdir (72-74). Fakat ampulla Vateri'nin karmaşık anatomisi ve histolojisi nedeniyle bu olguların 5 yıllık sağ kalımı %50'den azdır (74, 75).



Resim 6: Ampulla Vateri anatomisi

AJCC/UICC tarafından 2009 yılında yayınlanan 7. baskıya ait TNM kategorileri Tablo 7’te, evreleme sistemi ise Tablo 8’de sunulmuştur (12).

Tablo 7: Ampulla Vateri adenokarsinomlarında TNM sınıflaması

pT	Primer tümör
pTx	Primer tümör değerlendirilememektedir.
pT0	Primer tümör lehine bulgu mevcut değildir.
pTis	Karsinoma in situ
pT1	Tümör, ampulla Vateri’ye ya da Oddi sfinkterine sınırlıdır.
pT2	Tümör, duodenum duvarına infiltredir.
pT3	Tümör, pankreasa infiltredir.
pT4	Tümör, peripankreatik yağ dokuya ya da çevre organlara infiltredir.
N	Bölgesel lenf nodları
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilememektedir.
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yoktur.
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı vardır.
M	Uzak metastaz
Mx	Uzak metastaz değerlendirilememektedir.
M0	Uzak metastaz mevcut değildir.
M1	Uzak metastaz mevcuttur.

Tablo 8: Ampulla Vateri adenokarsinomlarında evreleme

Evre	T	N	M
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1	N0	M0
Evre IB	T2	N0	M0
Evre IIA	T3	N0	M0
Evre IIB	T1, T2, T3	N1	M0
Evre III	T4	Herhangi bir N	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

TNM evreleme sisteminin içinde olmasa da tümör çapı, lokal nüks için bağımsız prognostik faktördür (76). Bazı serilerde pankreatik invazyonun tümör çapından bağımsız olarak daha önemli bir prognostik kriter olduğu gösterilmiştir (77). Lenfovasküler invazyon (78) ve perinöral invazyon (79) da prognostik faktörlerdir.

2.5. Smoothelin

Düz kas spesifik bir belirteç olup sadece terminal diferansiye düz kas hücrelerinin kontraktıl hücre iskeletinde eksprese olur (80, 81). Smoothelin, insanda kromozom 22q12'de bulunan SMTN geni tarafından kodlanan bir proteindir (82). Diğer düz kas belirteçlerinin aksine (düz kas aktini gibi) smoothelin ile, non-kontraktıl ya da proliferatif düz kas hücrelerinde ve düz kas benzeri yapılarda (myofibroblast gibi) ekspresyon görülmez ya da minimaldir (80, 81, 83, 84). Özellikle mesanenin mürskularis propria tabakasında eksprese olup mürskularis mukoza tabakasında eksprese olmaması ile ürotelyal karsinomların patolojik evresini belirlemede kullanılmaktadır (85).

Smoothelinin 2 izoformu bulunmaktadır:

1. Smoothelin A: 59-kDa kısa bir protein olup visseral organların düz kaslarında eksprese olan izoform (86).
2. Smoothelin B: 110-kDa uzun protein olup vasküler düz kas hücrelerinden eksprese olan izoform (80).

2.6. Transgelin

İnsanda TAGLN geni tarafından kodlanmakta olup (87, 88) düz kas hücreleri ve fibroblastlarda bulunan şekil değiştirmeye duyarlı aktin çapraz bağlanma proteindir. Bu yüzden direk ya da indirek olarak migrasyon, proliferasyon, diferansiasyon ya da apoptosis gibi birçok kanser ilişkili süreçte rol

alır (89). Önceleri rolünün tümör süpresyonu olduğu düşünülse de (89) artık rolünün tümör gelişimi yönünde olduğu bilinmektedir (90-93).

Transgelin, aktin ilişkili ve erken düz kas farklılaşmasını gösteren bir belirteç olarak ortaya konmuştur (94). Fakat ekspresyon paterni ve biyolojik işlevleri tüm tümörlerde farklıdır. Transgelin kaybının kolon ve prostat karsinogenezinde karakteristik bir bulgu olduğu (91, 92, 95, 96) bilinmektedir. Tersine transgelin overekspresyonu da gastrik adenokarsinomlarda (97) ve lenf nodu pozitif kolorektal adenokarsinomlarda gösterilmiştir (98).

2.7. Düz Kas Myozini (SMM)

Düz kas myozini, kalın bir filaman olup kontraktil ünitenin motor molekülüdür. MYH11 geni tarafından sentezlenen uzun, asimetrik bir proteindir. Bir çift myozin ağır zinciri (MHCs) ve 2 çift myozin hafif zinciri içerir (MLC₁₇ and MLC₂₀) (99). MLC₁₇ myozinin enzimatik aktivitesinden sorumluyken MLC₂₀ regülatuar hafif zincir olup myozinin fosforilasyonundan sorumludur.

Düz kas hücrelerinde myosin polimorfizmi bilinmektedir (100, 101). Myozin ağır zincirinin 2 izoformu SM1 (204 kDa) ve SM2 (200 kDa) bulunur. Bu iki izoformun farkı c-terminal kuyruğu bölgesindedir.

SMM'nin in vivo ve hücre kültürü koşullarında düz kas hücrelerinden hızlı bir şekilde kaybolduğu gösterilmiştir (102, 103). Bu bulgu, SMM'nin düz kas

orijinininden çok, düz kas diferansiasyonunu göstermede daha güvenilir bir belirteç olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca yara iyileşmesi sırasında myofibroblastların düz kas aktini, vimentin, desmin eksprese etmesine karşı düz kas myozini ekspresyonu göstermemesi de SMM'nin düz kas diferansiasyonunu gösteren spesifik bir belirteç olduğunu doğrulamaktadır. Myofibroblastların sadece bazı Dupuytren kontraktürü hastalarında ve meme dokusunda SMM eksprese ettiği gösterilmiştir(104).

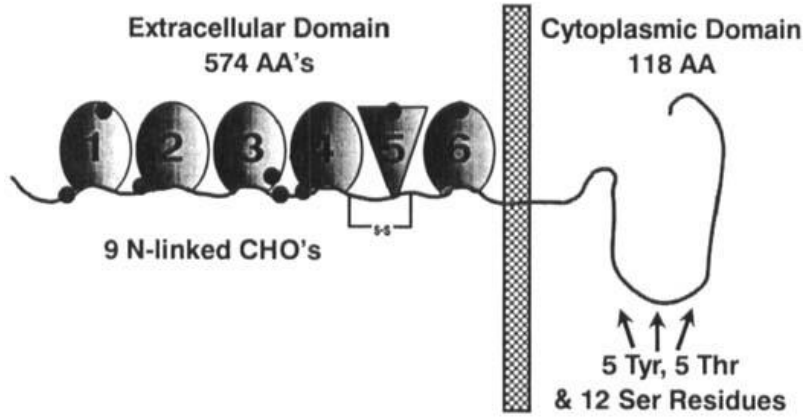
2.8. CD31

PECAM-1 platelet, monositler, nötrofiller ve bazı T- hücrelerinin yüzeyinde eksprese olurlar. İlk defa 1985 yılında Ohto ve arkadaşları tarafından TM2 ve TM3 adında myeloid reaktivitesinden, monosit ve nötrofil kemotaksisinden sorumlu 2 antikor tanımlanmıştır (105). Goyert ve arkadaşları 1986 yılında myelomonositik ama eritroid hücrelerde bulunmayan 130,000 Da ağırlığında bir antijen tanımlamışlardır (106). Albelda ve arkadaşları, 1980lerin sonlarında 130 kDa ağırlığında, endotelial hücrelerin interselüler bağlantılarında lokalize bir molekül keşfetmiş, adını ENDO-CAM koymuşlardır (107). Sonunda Muller ve arkadaşları “insan endotelial hücrelerine sınırlı membran glikoproteini” tanımlamışlardır. PECAM-1 proteininin saflaştırılması ve kopyalanmasının bir sonucu olarak 1990 yılında daha önce tanımlanan tüm proteinler CD31 adı altında birleştirilmiştir (108).

CD31, endotel hücreleri arasındaki bağlantıların büyük kısmını oluşturur. Lökositlerin transmigrasyonundan, anjiyogenezden ve integrin aktivasyonundan sorumlu bir immüoglobülin süper ailesi üyesidir (109). PECAM-1 proteini 738 aminoasit içerir, ilk 27 aminoasit sinyal peptididir. Ayrıca proteinin hücre dışındaki bölümü 6 adet immüoglobülin benzeri homolog domain bulundurur. PECAM-1 proteininin sitoplazmik kuyruğu relatif olarak uzundur ve 118 aminoasit rezidüsü içerir (110) (Resim 7).

CD31 normalde endotelial hücrelerden, plateletlerden, makrofajlardan ve Kupffer hücrelerinden, granüositlerden, T/NK hücrelerinden, lenfositlerden, megakaryositlerden, osteoklastlardan ve nötrofillerden eksprese olur. Ayrıca epiteloid hemanjiyoendotelyoma, epiteloid sarkom benzeri hemanjiyoendotelyoma, vasküler tümörler, histiyositik maligniteler ve plazmasitom gibi tümörlerde de ekspresyonu izlenir.

Histolojik kesitlerde CD31, immünohistokimyasal olarak özellikle endotelial hücreleri göstermek için kullanılır.



Resim 7: CD31 proteininin şematik resmi

2.9. Tümörlerde Venöz İnvazyon

Venlerin primer fonksiyonu, kanı vena cava yoluyla kalbe geri taşımaktır. Ayrıca vasküler sistemin bir rezervuarı gibi davranırlar. Arterlerle kıyaslandığında benzer boyutta olup daha ince müküler duvarlı olarak görünürler. Safen, iliak, brakiosefalik, portal, adrenal venler ve vena cavada ayrıca longitudinal müküler tabaka bulunur fakat histolojik kesitlerde ayırt etmek oldukça zordur. Plasental, dural, retinal venler ve erektil dokunun venleri çok az kas tabakasına sahiptir. Genel olarak alt ekstremitte venleri, üst ekstremitte venlerinden daha kalın duvara sahiptir. Birçok vende kanın geriye kaçışını önlemek amacıyla kapakçık yapıları bulunur.

Geniş venler, iyi gelişmiş fibröz adventisya içerir. Safen venin arteriel greft olarak kullanımı arttıkça büyük venlerin normal yapısının anlaşılması

kolaylaşmıştır (42). Orta ve ileri yaştaki insanlarda intimal fibrozis ve müsküler hipertrofi görülür (43).

Damar yapısında endotel, düz kas (media) ve adventisya olmak üzere 3 tabaka bulunur. Endotel hücre tabakası tek sıralı olduğundan bir damarın tümör ile infiltre olması halinde, endotelyal belirteçler ile gösterilmesi çoğunlukla çok zordur çünkü endotel hücreleri tümör tarafından ortadan kaldırılmıştır.

Tüm tümörlerde Vİ prognostik bir faktördür, hatta renal hücreli karsinom ve hepatoselüler karsinomda TNM sınıflamasına girmiştir (12).

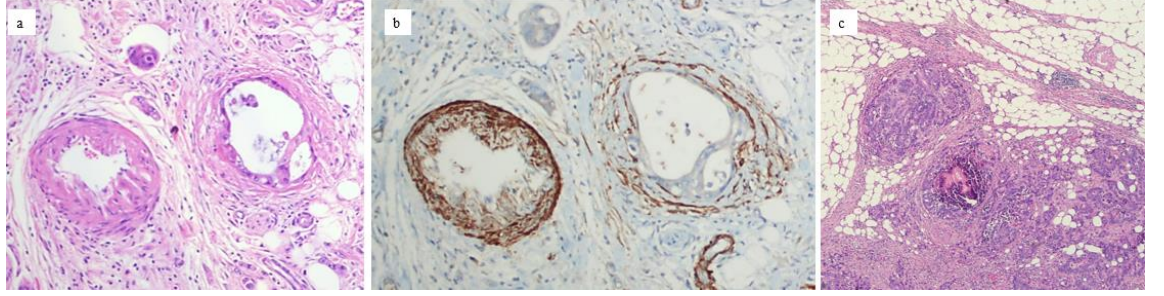
Vİ, “endotel ile dşeli ya da etrafı kas ile çevrili bir boşlukta tümörün olması” şeklinde tanımlanmıştır (20) ve kötü prognozla ilişkilidir (111). Örneğin evre II kolon kanserinde 5 yıllık sağ kalım, ektramural ya da intramural Vİ varlığında %64’e düşmektedir (20). Bu yüzden raporlarda mutlaka belirtilmesi gereken bir parametredir. Kanada’da 2011 yılında yapılan bir anket çalışmasında patoloğların %70’i, Vİ’u raporlarının %10’dan azında belirttiğini söylemiştir (112). Ayrıca Vİ tanısında, aynı merkezde çalışan gastrointestinal patoloğlar arasında bile uyum oldukça azdır. Bu durumun, raporlamada bir standart olmaması, patoloğun deneyimi, özel boyama yöntemlerinin kullanımı gibi faktörlere bağlı olduğuna inanılmaktadır (113).

Vİ’nin patoloji raporlarında belirtilmesi çok önemlidir. Çünkü pozitif lenf nodu olmayan, yeterli lenf nodu diseke edilmiş kolon kanserinde (Evre II) adjuvan kemoterapi, sadece yüksek risk faktörlerine sahip hastalarda

önerilmektedir. Bu risk faktörleri; pT4 tümör, az diferansiye adenokarsinom/ undiferansiye adenokarsinom, vasküler invazyon, lenfatik damar invazyonu, perinöral invazyon, tıkanma ya da tümör perforasyonu, 12'den az lenf nodu diseke edilmesi ve yüksek CEA seviyesidir (114-116). Ayrıca lenf nodu negatif evre IA gastrik kanserde de Vİ varlığında adjuvan kemoterapi verilmesinin genel sağ kalımı arttırdığı gösterilmiştir (117).

Histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemler ile kan damarlarının gösterilmesi, Vİ'nin saptanmasında giderek artan bir yöntem haline gelmiştir (118-122). Özel teknik kullanıldığında evre II tümörlerde Vİ'nin saptanma oranı %27-52'ye kadar çıkmaktadır (123-126). Fakat Vİ için rutin olarak özel boyama yöntemi kullanılması tavsiye edilmemektedir.

Standart H&E kesitlerde Vİ'yi düşündürecek bazı iyi tanımlanmış histolojik ipuçları vardır: "Orphan arteriol" ve "Protruding tongue" (27) (Resim 8). Orphan arteriol, "rezidü ven duvarı olsun ya da olmasın, iyi sınırlı bir tümör nodülünün orta çaplı bir arterin yanında olması" olarak tanımlanabilir. "Protruding tongue", "tümörden perikolik yağ dokuya doğru yuvarlak, iyi sınırlı protrüzyon" şeklinde tanımlanır. CAP protokolünde bu bulgular varlığında mevcut bloklara elastin boyası yapılması önerilmiştir (26).



Resim 8: a,b)Orphan arterioid, c) Protruding tongue; a) H&E x100, b) SMM x100 c)H&E x40

2.10. Tümör Depozitleri

Perirektal ya da mezokolik yağ dokuda serbest şekilde görülen tümör depozitleri ilk kez 1998 yılında yapılan TNM evrelemede ele alınmıştır (127). Bir sonraki baskıda düzgün sınırlı TD'lerin pozitif lenf nodu olarak, irregüler TD'lerin Vİ olarak değerlendirilmesine karar verilmiştir.

Tümör depozitlerinin de önemli bir prognostik belirteç olduğu bildirilen çalışmaların artmasıyla (128-132) TD'ler TNM sınıflamasında tekrar ele alınmıştır (1). Lenf nodu metastazı olmayan fakat tümör depozitleri olan olguların "pN1c" kategorisine dahil edilmesine karar verilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastaların Seçimi

Bu çalışmada, 2007- 2015 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı alan 11 Whipple, 5 total gastrektomi, 3 segmental kolektomi ve 1 low anterior rektum rezeksiyon materyaline ait 79 blokta bulunan toplam 254 odak ele alınmıştır.

Rezeksiyon materyalleri seçilirken özellikle aşikar Vİ kriterlerinin varlığı değerlendirilmiştir.

3.2. İncelenen Parametreler

Yirmi hastaya ait yaş, cinsiyet, tümör yerleşim yeri, tümör çapı, TNM evresi gibi bilgilere Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi hastane bilgi sisteminden ulaşılmıştır.

Seçilen hastaların rezeksiyon materyalleri tekrar gözden geçirilerek “orphan arteriol” ya da “protruding tongue” belirtilerine bakılmış, uygun tümör blokları belirlenmiştir. Bu tümör bloklarına immünohistokimyasal olarak CD31, transgelin, SMM ve smoothelin belirteçleri çalışılmıştır. Ayrıca tümörün histolojik tipi, derecesi, invazyon derinliği belirlenmiş, hastalığın evresi AJCC/UICC 2009 kriterlerine göre verilmiştir.

Tümörün diferansiyasyon derecesine, DSÖ'nün 2013 yılında yayınladığı kriterler ile karar verilmiştir. Buna göre, tümörün %95'ten fazlasında gland oluşumu görülüyorsa iyi diferansiye, %50-95'inde gland oluşumu varsa orta diferansiye, %5-50'sinde gland oluşumu varsa az diferansiye adenokarsinom olarak değerlendirilmiştir.

Seçilen tümör odakları 3 gruba ayrılmıştır:

4. **Tip A:** Komşuluğunda ven yapısının eşlik etmediği arter / arteriol bulunan tümör odakları;

5. **Tip X:** H&E incelemede diğer iki olası venöz invazyon veya serbest tümörü olarak kuşulanılmamış, diğer iki tip odak nedeniyle immünhistokimya uygulanmış lamlarda tesadüfen görülen odaklar;

6. **Tip F:** Serbest tümör depozitleri; ana tümör kitlesi dışında bulunan ve komşuluğunda venin eşlik etmediği arter / arteriol yapılarının olmadığı tümör odakları – ana tümör kitlesi “dışı olmak” için, ana tümör kitlesinden (geçmiş deneyim ışığında ve tümüyle keyfi olarak belirlenmiş) en az 5 milimetre uzakta olmak koşulu aranmıştır.

Bu odakların immünhistokimyasal boyanması skorlanarak immünhistokimyasal belirteçler karşılaştırılmıştır.

3.3. İmmünohistokimyasal Yöntem

%10'luk formaldehit ile tespit edilen dokulara ait 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler pozitif şarjlı lamlara alınmıştır. CD31, Smoothelin, transgelin ve SMM ekspresyonlarını belirlemek için, streptavidin-biyotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak, otomatik immünohistokimya boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT cihazında boyanma yapılmıştır.

CD31 (Ventana, monoclonal mouse, JC70) antikoruna ve Smooth muscle myosin (Ventana, monoclonal mouse, SMMS-1) antikorları kullanıma hazır olup dilüe edilmemiştir. Smoothelin (CellMarque, monoclonal Mouse, R4A) antikoruna 1/500 oranında ve transgelin (CellMarque, monoclonal Mouse, 2A10C2) antikoruna 1/100 oranında Ventana marka antibody dilüent ile dilüe edilmiştir. Biotinlenmiş bağlayıcı (sekonder) antikorun, streptavidin-biyotin kompleksinin ve kromojen olarak kullanılan 3,3'-diaminobenzidinin (DAB) ticari olarak kullanıma hazır kitleri kullanılmıştır.

Pozitif kontrol olarak tüm belirteçler için normal kolon duvarı kullanılmıştır.

Uygulanan immünohistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Pozitif şarjlı lamlara 4 mikrometrelilik kesitler alınmıştır.
2. Ventana cihazına yerleştirilmiştir.

3. Antijen retrieval için CD31, SMM, transgelin ve smoothelin EDTA buffer (pH:8.0) içinde 1 saat cihazda bekletilmiştir.

4. Primer antikor inkübasyonu için SMM, CD31, transgelin ve smoothelin cihazda 32 dk bekletilmiştir.

5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “*Ultraview universal DAB detection kit*” kullanılmıştır.

6. Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama tamamlanmıştır.

7. Lamlar çeşme suyunda yıkanmış, sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutulmuştur.

8. Entellan kullanılarak lamlar kapatılmıştır.

3.4. İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal preparatlar, tek gözlemci tarafından değerlendirilmiştir. Tüm boyalar için pozitif kontrol olarak kolon duvarı kullanılmıştır.

Tüm immünohistokimyasal boyalar için öncelikle boyanma var/ boyanma yok ayırımı yapılmış olup boyanma olmayan odaklar “0”, boyanma olan odaklar “1” olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca tüm immünohistokimyasal boyalar için belirlenen odaklardaki herhangi bir boyanma şu şekilde değerlendirilmiştir:

+3: Damar çevresinin %66’sı ve daha fazlasının boyanması;

+2: Damar duvarının %33-66’sının boyanması;

+1: Damar duvarının %33’ünden azının boyanması;

0: Tüm duvarda hiç boyanma olmaması.

Bunların dışında odakların ektramural ya da intramural olması kaydedilmiştir. Transgelin ile desmoplazinin boyandığı olgular da not edilmiştir.

3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve tabloların oluşturulması amacıyla SPSS (SPSS Inc., Chicago IL, USA) version 15 kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kategorik değişkenlerin sunumu için ise frekans ve yüzde değerler kullanılmıştır. Satır ve sütun sayısı iki olan kategorik değişkenlerin istatistiksel değerlendirilmesinde Chi-Square (X^2) testi ve gerekli olduğu durumlarda Fisher exact test kullanıldı. Satır ya da sütun sayısı ikiden çok olan çapraz tabloların istatistiksel değerlendirilmesinde ise yine Chi-Square (X^2) testi, istatistiksel olarak anlamlı çıkan Chi-Square testlerinde farklılığın hangi hücreler arasında olduğu belirlemek için ise Post-hoc Chi-Square testleri kullanıldı. Bütün istatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir.

3.6. Etik Kurul Onayı

Bu çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu'ndan 12.10.2015 tarihinde, 17 karar numaralı etik kurul onayı alınmıştır.

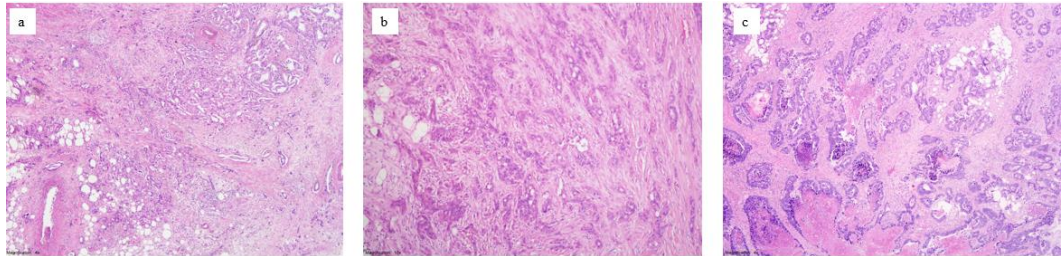
4. BULGULAR

4.1. Hastaların Demografik Özellikleri ve Tümörlerin Özellikleri

Hastaların demografik özellikleri ve tümörlerin özellikleri Tablo 9'da belirtilmiştir.

Çalışmaya katılan hasta sayısı 20, blok sayısı 79, odak sayısı 254'tir. Hastaların yaşları 42 ile 84 arasında değişmekte olup ortalaması 65,7'dir. Hastaların 14'ü erkek (%70), 6'sı kadındır (%30). Çalışmada 11 adet Whipple, 5 adet total gastrektomi, 3 adet segmental kolektomi ve 1 adet low anterior rektum rezeksiyon materyallerine ait bloklar kullanılmıştır. Tümör çapları ortalaması 4,2 cm olup 0,3 cm ile 7,5 cm arasında değişmektedir.

DSÖ'nün 2013 yılında yayınladığı kriterlere göre tümörler değerlendirildiğinde, 4 tanesi "iyi diferansiye adenokarsinom", 13 tanesi "orta diferansiye adenokarsinom", 3 tanesi ise "az diferansiye adenokarsinom" tanıları almıştır (Resim 9). Tümörlerin 8'i pankreas, 2'si duodenum, 3'ü kolon, 1'i rektum, 2'si gastroözefagial bileşke, 2'si korpus, 1'i antrum, 1'i koledok duvarı yerleşimlidir.



Resim 9: a) Orta derecede diferansiye adenokarsinom, pankreas, H&E x40, b) Az diferansiye adenokarsinom, pankreas, H&E x100, c) Orta derecede diferansiye adenokarsinom, kolon, H&E, x40.

Tablo 9: Hastaların demografik özellikleri ve tümörlerin özellikleri

		Sayı (%)
Yaş	<50	2 (10)
	≥50	18 (90)
Cinsiyet	Kadın	6 (30)
	Erkek	14 (70)
Tanı	İyi diferansiye adenokarsinom	4 (20)
	Orta derecede diferansiye adenokarsinom	13 (65)
	Az diferansiye adenokarsinom	3 (15)
Ameliyat tipi	Whipple	11 (55)
	Total gastrektomi	5 (25)
	Segmental kolektomi	3 (15)
	Low anterior	1 (5)
Tümörün yerleşim yeri	Mide- GÖB	2 (10)
	Mide- Korpus	1 (5)
	Mide- Antrum	2 (10)
	Koledok	1 (5)
	Kolon	2 (10)
	Ampulla Vateri	2 (10)
	Pankreas	8 (40)
	Rektum	1 (5)
pT	pT2	3 (15)
	pT3	11 (55)
	pT4	6 (30)
Lenf nodu metastazı	Var	15 (75)
	Yok	5 (25)
pN	pN0	3 (15)
	pN1	11 (55)
	pN1c	2 (10)
	pN2	4 (20)

AJCC/UICC tarafından 2009 yılında yayınlanan 7. baskıya ait TNM kategorilerine göre 3 hasta pT2, 11 hasta pT3, 6 hasta pT4 olarak sınıflanmıştır. pT1 evresinde hasta bulunmamaktadır. Biri total gastrektomi, 2'si Whipple olmak üzere 3 olguda lenf nodu metastazı görülmemiştir (pN0). Ayrıca lenf nodu metastazı olmayan 1 segmental kolektomi vakasında perikolik yağ dokuda tümör deposu olduğundan lenf nodu evresi pN1c olarak verilmiştir.

Her vakaya ait bloklar incelenerek çalışmada kullanılmak üzere toplam 79 adet blok seçilmiştir. Bu 79 bloktan elde edilen 254 odak üzerinde immünohistokimyasal belirteçler kıyaslanmıştır.

4.2. Seçilen Olası Venöz İnvazyon Odaklarının Özellikleri

Odak tiplerinin dağılımı Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10: Odak tiplerinin dağılımı

		<i>Sayı</i>	<i>%</i>
ODAK TİPİ	<i>A</i>	152	59,8
	<i>X</i>	74	29,1
	<i>F</i>	28	11,0
Toplam		254	100

Toplam 254 odağın 152'si A, 74'ü X, 28'i F olarak belirlenmiştir.

Odak tiplerinin hangi organlarda bulunduğu Tablo 11'de gösterilmiştir.

Çalışmamıza kolon, mide, pankreas ve ampulla Vateri adenokarsinomları dahil edilmiştir. Odakların 20'si (%7,9) ampulla Vateri adenokarsinomuna ait olup bunların 14'ü (%70) "A" tipi, 6'si (%30) "X" tipidir. Mide adenokarsinomuna ait odak sayısı 60'tır (%23,6). Bu odakların 39 (%65) tanesi "A" tipi, 12 (%20) tanesi "X" tipi, 9 (%15) tanesi "F" tipidir. Pankreas adenokarsinomuna ait odak sayısı 124 (%48,8)'tür. Bu odakların 77'si (%62,1) "A" tipi, 47'si (%37,9) "X" tipi'dir. Pankreasta "F" tipi odak saptanmamıştır. Kolon adenokarsinomuna ait odak sayısı 50 (%19,7) olup bunların 22'si (%44) "A" tipi, 9'u (%18) "X" tipi, 19'u (%38) "F" tipidir.

Tablo 11: Odak tiplerinin organlara göre dağılımı

		ODAK TİPİ		
		A	X	F
		Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)
ORGAN	Ampulla	14 (70,0)	6 (30,0)	-
	Mide	39 (65,0)	12 (20,0)	9 (15,0)
	Pankreas	77 (62,1)	47 (37,9)	-
	Kolon	22 (44,0)	9 (18,0)	19 (38,0)
Toplam		152 (59,8)	74 (29,1)	28 (11,0)

Kolon ve midede seçilen odakların intramural/ ektramural olma durumları

Tablo 12’de gösterilmiştir.

Midedeki 39 adet “A” odağının 15’i (%38,5) intramural, 24’ü (%61,5) ektramuraldır. 12 adet “X” odağının 8’i (%66,7) intramural, 4’ü (%33,3) ektramuraldır. Kolondaki 20 adet “A” odağının 4’ü (%20) intramural, 16’sı (%80) ektramuraldır. 9 adet “X” odağının 3’ü (%33,3) intramural, 6’sı (%66,7) ektramuraldır. ”F” odakları her iki organda da tümör depozitlerinden seçildiği için tamamı ektramuraldır.

Tablo 12: Odakların kolon ve mide duvarlarındaki yeri

		ORGAN				
		Mide		Kolon		
		Sayı	(%)	Sayı	Yüzde(%)	
ODAK TİPİ	A	<i>Intramural</i>	15	(38,5)	4	(20,0)
		<i>Ektramural</i>	24	(61,5)	16	(80,0)
	X	<i>Intramural</i>	8	(66,7)	3	(33,3)
		<i>Ektramural</i>	4	(33,3)	6	(66,7)
	F	<i>Intramural</i>	-	-	-	-
		<i>Ektramural</i>	9	(100,0)	17	(100,0)

4.3. Seçilen Olası Venöz İnvazyon Odaklarında İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Karşılaştırılması

İmmünohistokimyasal olarak CD31, SMM, transgelin ve smoothelin boyaları uygulanan tüm lamlarda pozitif kontrolde boyanma izlenmiştir.

Belirlenen hiçbir odakta smoothelin ile boyanma saptanmamıştır (Resim 10).

CD31 uygulanan lamlarda belirlenen hiçbir odakta pozitif boyanma saptanmamıştır. Ayrıca tüm lenfatik ve kan damarlarında endotelial pozitiflik izlenmesi değerlendirmeyi güçleştirmiştir (Resim 10).

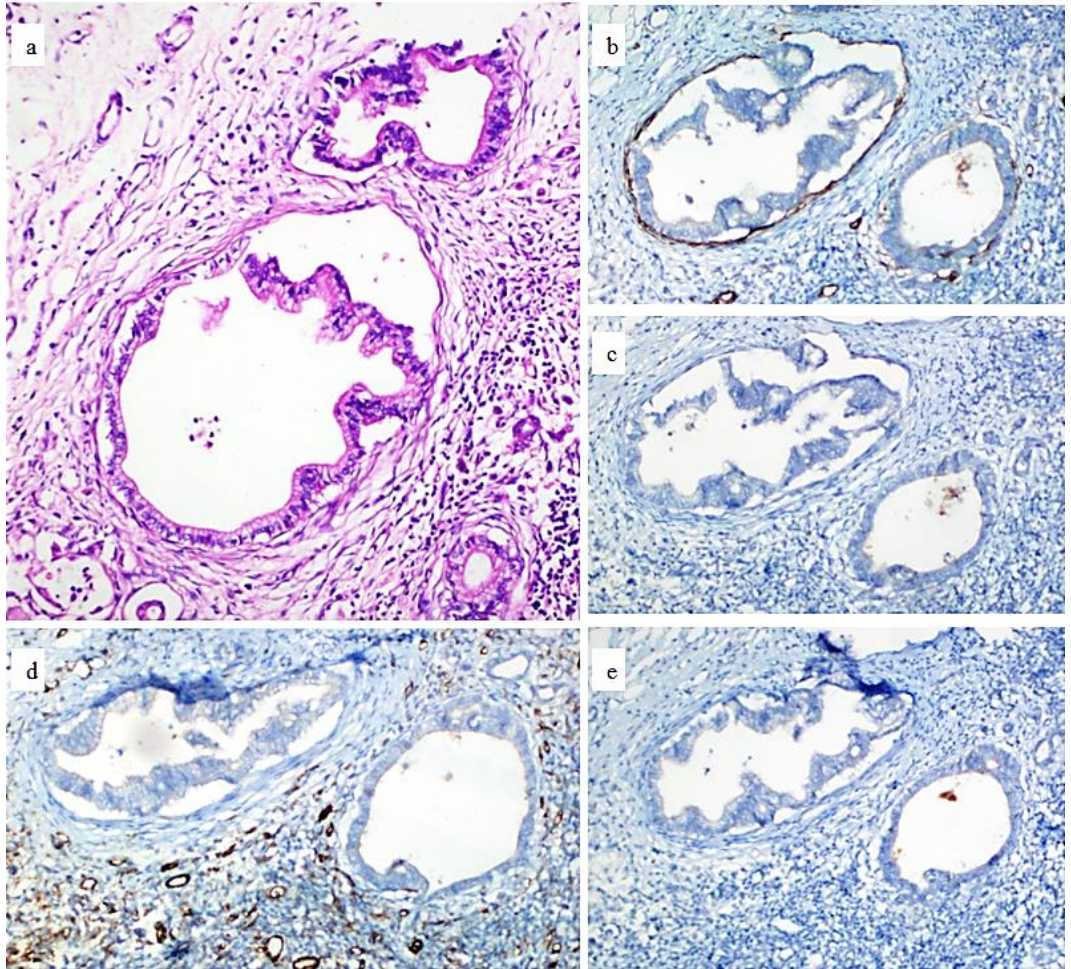
SMM ve transgelin ile elde edilen boyanma sonuçları Tablo 13- 17’de verilmiştir. Tüm odaklar için ve tiplere göre çözümlendiğinde negatif (0) ve pozitif (1) sonuçların karşılaştırılması Tablo 13’te verilmiştir. Yetmiş dokuz bloğun 15 tanesinde (%18,9) transgelin ile desmoplastik stromada boyanma izlenmiştir.

Tüm odaklara bakıldığında SMM ve transgelin sonuçlarının değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut olup transgelin SMM’ye göre üstün bulunmuştur ($p<0,001$). SMM ile boyanma göstermeyen odak sayısı 21 olup bu odakların 14 (%66,7)’ünde transgelin ile boyanma görülmüştür. SMM ile boyanma görülen 2 (%0,9) odakta transgelin ile boyanma görülmemiştir.

A tipi odakların SMM ve transgelin boyanma sonuçlarının değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut olup transgelin

SMM'ye göre üstün bulunmuştur ($p=0,001$). SMM ile boyanma görülmeyen 9 odağın 6 (%66,7) tanesinde transgelin ile boyanma görülmüş olup 141 odakta hem transgelin hem de SMM ile boyanma mevcuttur.

X tipi 74 (%100) odağın tamamında transgelin pozitifdir. Bu nedenle X tipi odaklarda istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır. SMM, 2 (%2,7) odak haricinde 72 (%97,3) odakta pozitif olarak saptanmıştır.



Resim 10: "X" odağı. a) H&E, b) SMM, boyanma skoru: +3, c) Transgelin, boyanma skoru:0, d) CD31, boyanma skoru:0, e) Smoothelin, boyanma skoru:0.

Tablo 13: Tüm Vİ odaklarında SMM ve transgelin ile boyanma sonuçları

ODAK	TRANSGELİN		X ² - değeri	p-değeri	
	SMM	Negatif			Pozitif
		Sayı (%)			Sayı (%)
Genel	Negatif	7 (33,3)	14 (66,7)	59,443	<0,001
	Pozitif	2 (0,9)	231 (99,1)		
A Tipi	Negatif	3 (33,3)	6 (66,7)	27,143	0,001
	Pozitif	2 (1,4)	141 (98,6)		
X Tipi	Negatif	-	2 (100,0)	-	-
	Pozitif	-	72 (100,0)		
F Tipi	Negatif	4 (40,0)	6 (60,0)	8,400	0,010
	Pozitif	-	18 (100,0)		

F tipi odakların SMM ve transgelin boyanma sonuçlarının değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut olup transgelin SMM'ye göre üstün bulunmuştur (p=0,010). SMM ile boyanma görülmeyen odak sayısı 10 olup bu odakların 6 (%60,0) tanesinde transgelin ile boyanma görülmüştür. Dört (%14,2) odak tüm belirteçler ile negatiftir.

Tüm odaklarda SMM ve transgelin ile boyanma skorlarının ayrıntılı (0, +1, +2, +3 skorları üzerinden) karşılaştırılması Tablo 14'te verilmiştir.

SMM ile boyanma görülmeyen 14 (%5,5) odakta transgelin ile boyanma skorları 10 (%71,4) tanesinde +3, 3 (%21,4) tanesinde +2, 1 (%7) tanesinde +1 şeklindedir. SMM ile boyanma skoru +1 olan 11 (%4,3) adet odak mevcuttur. Bu odakların 9'unda (%81,8) transgelin ile +3, 1'inde (%9) +2, 1'inde (%9) +1 şiddetinde boyanma izlenmiştir. SMM ile boyanma skoru +2 olan 29 (%11,4) adet

odak mevcuttur. Bu odakların 20'sinde (%68,9) transgelin ile +3, 7'sinde (%24,1) +2, 2'sinde (%6) +1 şiddetinde boyanma izlenmiştir. Boyanma skoru SMM ile +1 ya da +2 olup, transgelin ile 0 olan odak yoktur. SMM ile +3 şiddetinde boyanma görülen 193 (%76) odağın 2 (%1) tanesinde transgelin ile 0 şiddetinde, 3 (%1,5) tanesinde +1 şiddetinde, 23 (%11,9) tanesinde +2 şiddetinde boyanma görülmüştür. 165 adet (%65) odakta SMM ve transgelin ile +3 şiddetinde boyanma görülmüştür.

Tablo 14: Tüm VI odaklarında SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırılması ()*

TRANSGELİN				
SMM	0	+1	+2	+3
	<i>Sayı (%)</i>	<i>Sayı (%)</i>	<i>Sayı (%)</i>	<i>Sayı (%)</i>
0	7 (33,3) ^a	1 (4,8) ^b	3 (14,3) ^{a,b}	10 (47,6) ^a
+1	-	1 (9,1) ^a	1 (9,1) ^a	9 (81,8) ^b
+2	-	2 (6,9) ^a	7 (24,1) ^{a,b}	20 (69,0) ^b
+3	2 (1,0) ^a	3 (1,6) ^a	23 (11,9) ^b	165 (85,5) ^c

()Her satır için aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan değerler aynı harf ile gösterilmiş olup anlamlı fark olan değerler farklı harflerle gösterilmiştir.*

“A” tipi odaklarda SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırması Tablo 15'te verilmiştir (Resim 11).

Toplam 152 odağın 3'ünde (%2) her iki belirteçle de boyanma görülmemiştir (Boyanma skoru: 0). 100 (%65,8) odakta her iki belirteçle de boyanma skoru +3'tür. SMM ile 0 boyanma skoruna sahip 9 (%5,9) odağın 6'sı

(%66,6) transgelin ile +3 boyanma skoruna sahiptir. SMM ile +1 şiddetinde boyanma gösteren 6 (%3,9) odağın 5'inde (%83,3) transgelin ile +3, 1'inde (%16,6) +2 şiddetinde boyanma görülmüştür. SMM ile +2 şiddetinde boyanma gösteren 19 (%12,5) odağın 17'sinde (%89,4) transgelin ile +3 şiddetinde, 2'sinde (%10,6) +2 şiddetinde boyanma görülmüştür. SMM ile +3 şiddetinde boyanma gösteren 118 (%77,6) odağın 2'sinde (%1,6) transgelin ile boyanma görülmemiştir (Boyanma skoru:0). 14 (%11,8) odakta boyanma skoru +2, 2 (%1,6) odakta boyanma skoru +1'dir.

Tablo 15: "A" tipi odaklarda SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırılması ()*

TRANSGELİN				
SMM	0	+1	+2	+3
	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)
0	3 (33,3)	-	-	6 (66,7)
+1	-	-	1 (16,7)	5 (83,3)
+2	-	-	2 (10,5) ^a	17 (89,5) ^b
+3	2 (1,7) ^a	2 (1,7) ^a	14 (11,9) ^b	100 (84,7) ^c

()Her satır için aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan değerler aynı harf ile gösterilmiş olup anlamlı fark olan değerler farklı harflerle gösterilmiştir.*

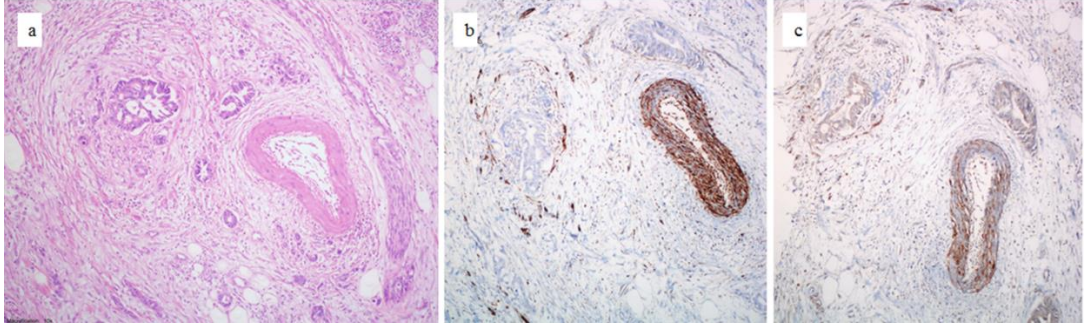
“X” tipi odaklarda SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırması Tablo 16'da verilmiştir (Resim 12 ve Resim 13).

Tablo 16: "X" tipi odalarda SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırılması
(*)

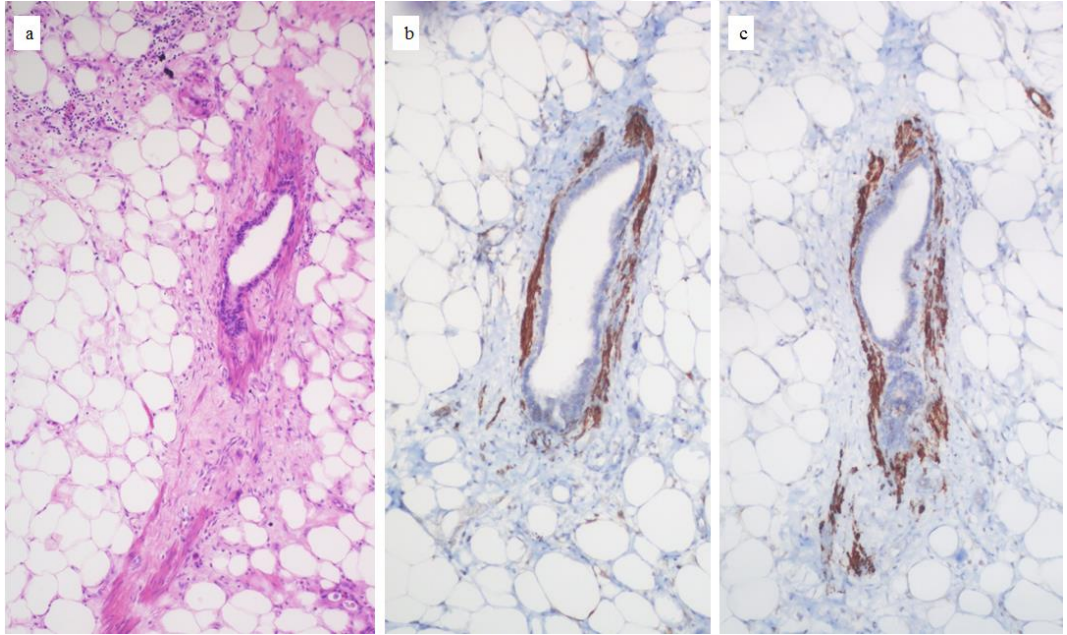
TRANSGELİN			
SMM	+1	+2	+3
	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)
0	1 (50,0)	-	1 (50,0)
+1	1 (20,0)	-	4 (80,0)
+2	1 (14,3)	3 (42,9)	3 (42,9)
+3	1 (1,7) ^a	9 (15,0) ^b	50 (83,3) ^c

(*)Her satır için aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayan değerler aynı harf ile gösterilmiş olup anlamlı fark olan değerler farklı harflerle gösterilmiştir.

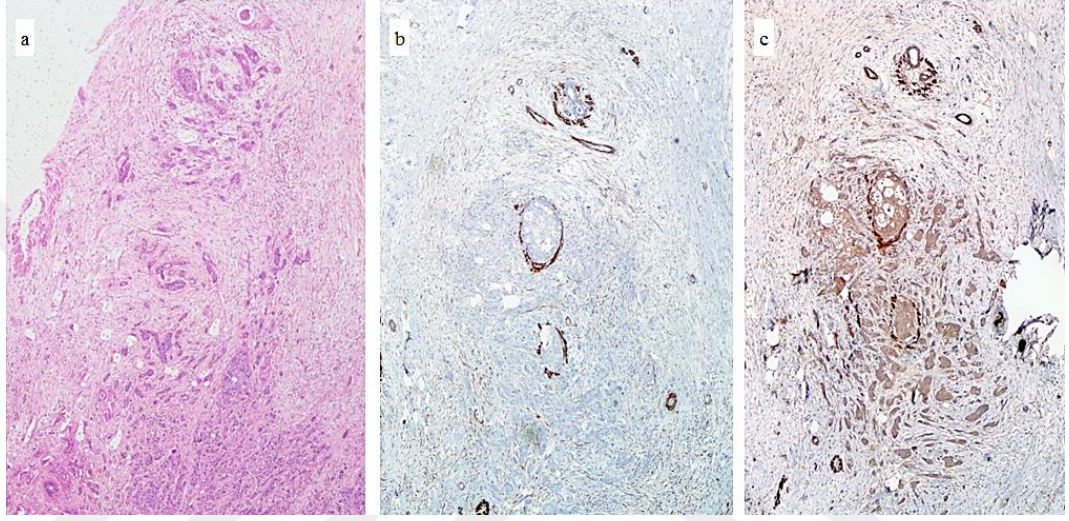
Toplam 74 odağın 50 (%67,5) tanesinde her iki belirteçle de boyanma skoru +3'tür. SMM ile 0 boyanma skoruna sahip 2 (%2,7) odağın 1'i (%50) transgelin ile +3 boyanma skoruna sahiptir. SMM ile +1 şiddetinde boyanma gösteren 5 (%6,8) odağın 4'ünde (%80) transgelin ile +3, 1'inde (%20) +1 şiddetinde boyanma görülmüştür. SMM ile +2 şiddetinde boyanma gösteren 7 (%9,5) odağın 3'ünde (%42,8) transgelin ile +3 şiddetinde, 3'ünde (%42,8) +2 şiddetinde boyanma görülmüştür. SMM ile +3 şiddetinde boyanma gösteren 60 (%81,1) odağın 9'unda (%15) boyanma skoru +2, 1'inde (%1,6) boyanma skoru +1'dir. Her 2 belirteçle de boyanma göstermeyen X odağı bulunmamaktadır.



Resim 11: "A" tipi odak a) H&E, b) Transgelin ekspresyonu, boyanma skoru +3, c) SMM ekspresyonu, boyanma skoru +2.



Resim 12: "X" tipi odak. a) H&E, b) Transgelin ekspresyonu, boyanma skoru +3, c) SMM ekspresyonu, boyanma skoru +3.



Resim 13: "X" tipi odak a) H&E, b) Transgelin ekspresyonu, boyanma skoru +3, c) SMM ekspresyonu, boyanma skoru +3.

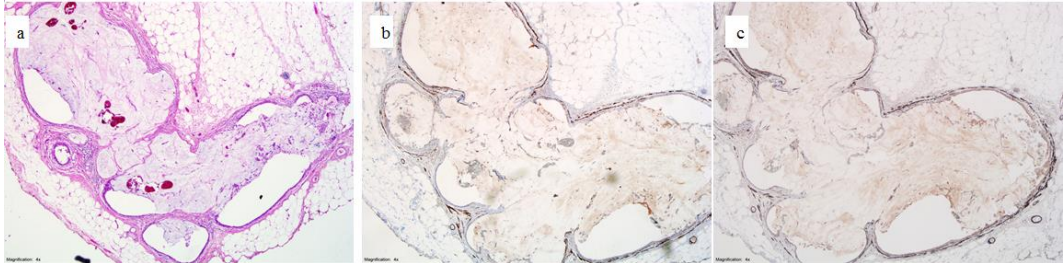
“F” tipi odaklarda SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırması Tablo 17’de verilmiştir (Resim 14).

Toplam 28 odağın 4’ünde (%14,3) her iki belirteçle de boyanma görülmemiştir (Boyanma skoru: 0). 15 (%53,6) odakta her iki belirteçle de boyanma skoru +3’tür. SMM ile 0 boyanma skoruna sahip 10 (%35,7) odağın 3’ü (%30) transgelin ile +3 boyanma skoruna sahiptir. SMM ile +1 şiddetinde boyanma gösteren F tipi odak mevcut değildir. Transgelin ile +1 şiddetinde boyanma gösteren 1 adet (%3,6) odak SMM ile +2 şiddetinde boyanmıştır. SMM

ile +2 şiddetinde boyanma gösteren 3 (%10,7) odakın 2'sinde (%10,6) transgelin ile +2 şiddetinde boyanma görülmüştür.

Tablo 17: "F" tipi odaklarda SMM ve transgelin belirteçlerinin karşılaştırılması

SMM	TRANSGELİN			
	0	+1	+2	+3
	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)
0	4 (40,0)	-	3 (30,0)	3 (30,0)
+2	-	1 (33,3)	2 (66,7)	-
+3	-	-	-	15 (100,0)



Resim 14: "F" tipi odak a) H&E, b) Transgelin ekspresyonu, boyanma skoru +3, c) SMM ekspresyonu, boyanma skoru +3.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda 4 belirtecin Vİ ve TD'lerin değerlendirilmesinde birbirlerine üstünlüklerini bulmak amaçlanmıştır. Tümörlerde en önemli prognostik kriter TNM evrelemesi olsa da Vİ'nin tüm tümörlerde prognostik önem taşıdığı bilinmektedir. Vİ, kolorektal adenokarsinomlarda özellikle lenf nodu invazyonu olmayan evre I ve evre II hastalara adjuvan kemoterapi kararını yönlendiren faktörlerden biridir (114-116). Literatürdeki, Vİ ile ilgili çalışmaların birçoğu kolorektal adenokarsinomlar üzerinde yapılmıştır.

Kolorektal adenokarsinomlar, akciğer kanserinden sonra kanser sebepli ölümler arasında 2.sıradadır (31). Kolorektal adenokarsinomlarda, her ne kadar erken evre hastalarda 5 yıllık yaşam %90'a yaklaşırsa da, sağ kalımın uzak metastaz ve lokal nüks varlığında dramatik düşüşü (%19) dikkati çekmektedir (133). Uzak metastaz için gerekli ilk tümör davranışı lokal invazyon ve "venöz invazyon"dur.

Mide adenokarsinomlarında da Vİ'nin lenf nodu metastazından bağımsız olarak düşük sağ kalım ve tümör nüksü ile korele olduğu gösterilmiştir (57-59). Peng ve arkadaşları, 361 gastrik karsinom hastasından oluşan retrospektif çalışmalarında rutin H&E boyalı lamlarda Vİ analizi yapmışlardır. Vİ görülen hastalarda nüksün arttığını ve ortalama yaşam süresinin kıaldığını göstermişlerdir

(134). Setala ve arkadaşları, 321 gastrik kanser hastası ile yaptıkları çalışmada TNM evresinin sağkalımla en çok ilişkili faktör olduğunu, vasküler ve lenfatik invazyon ile Lauren sınıflamasının da bağımsız prognostik faktörler olduğunu göstermişlerdir (55).

Pankreas kanseri tanısı alan hastaların çoğu 1 yıl içinde kaybedilmektedir (135). Erken tanı için kullanılabilir tümör markerlarının yokluğu, hastalığın agresifliği, etkili tedavi seçeneklerinin kısıtlılığı kötü prognoz sebeplerindedir (136). Bizim çalışmamızda da organlara göre bakıldığında “A” ya da “X” tipi odaklar en sık pankreas adenokarsinomlarında görülmüştür. Bu durum, pankreas adenokarsinomlarının GİS tümörleri arasında en çok metastaz yapma kapasitesine sahip tümör olduğunu düşündürmektedir. Pankreas adenokarsinomu tanısı alan hastalarda Vİ ile ilgili ulaşılabilen İngilizce literatürde kısıtlı bilgi mevcuttur. Lovecek ve arkadaşları, pankreas rezeksiyonu geçiren 155 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, 5 yıl sonunda yalnızca 15 (%20,5) hastanın hayatta olduğunu, bu hastaların da ortalama yaşam sürelerinin 74 ay olduğunu görmüşlerdir. Tümörde lenf nodu infiltrasyonunun, vasküler invazyonun olmamasının, ameliyat sonrası komplikasyon gelişmemesinin, hastanın postoperatif tedavi almasının ve kan transfüzyonu almamasının sağ kalım ile ilişkisi olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca hastalarda Vİ'nin ölüm riskini 2.2 kat arttırdığı, adjuvan kemoterapi almamanın 2.6 kat arttırdığı ortaya konmuştur (137).

Literatürde ilk olarak kolorektal kanserlerde Vİ'nin visseral metastazlara sebep olduğu 1930'lu yılların sonunda Brown ve Warren tarafından fark

edilmiştir. Çalışmalarında ileri evre ya da inoperable olan kolorektal adenokarsinomların %61'inde Vİ olduğunu bulmuşlardır. Vİ olmayan hastaların otopsilerinde visseral organ metastazı izlenmezken Vİ içeren tümörlerin 2/3'ünde visseral organ metastazı saptanmıştır (138).

Literatürde Vİ odaklarını histokimyasal belirteçlerle araştıran, bu belirteçlerin H&E boyasına üstünlüğünü ortaya koyan birçok araştırma bulunmaktadır. Kirsch ve arkadaşlarının, 6'sı GİS, 6'sı GİS- dışı konularda uzman, toplam 12 adet patoloğ ile yaptığı çalışmada, gözlemcilerin birbirlerinden bağımsız olarak Vİ'yi "pozitif, negatif ve belirsiz" olarak değerlendirdikleri 40 H&E boyalı lamda Vİ saptanma oranı %19,6'dır. Altı hafta sonra Movat yöntemi ile yapılan elastin ile ve H&E ile boyalı lamlar 12 gözlemciye verilmiştir. Aynı olgularda Vİ saptanma oranı %46,4'e çıkmış olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,001). GİS uzmanı patoloğların GİS dışı uzmanlığa sahip patoloğlara göre Vİ saptama oranlarının hem H&E hem Movat boyalı preparatlarda daha yüksek olduğu saptanmıştır. (28). Hwang ve arkadaşlarının 93 adet pT3 ve pT4 kolorektal adenokarsinom üzerinde yaptıkları çalışmada öncelikle H&E ile boyalı rezeksiyon preparatlar "orphan arteriol" ve "protruding tongue" belirtileri göz önüne alınarak yeniden değerlendirilmiş, daha sonra bu bloklara altın standart olarak elastin boyası uygulanmıştır. Tüm bu sonuçlar hastaların ilk patoloji raporları ile karşılaştırılmıştır. Orijinal patoloji raporlarında %15,1 olan Vİ oranı, H&E boyalı lamların tekrar değerlendirilmesi ile %40,9'a, elastin boyası ile %48,4'e yükselmiştir (139). Yine Roxburgh ve arkadaşlarının

419 kolorektal rezeksiyon materyali ile yaptıkları çalışmada elastin boyasının kullanılması ile %18 olan Vİ oranının %58'e yükseldiğini göstermişlerdir. Stewart ve arkadaşları 23'ü müsinöz adenokarsinom tanısı alan 33 kolorektal rezeksiyon materyali ile yaptıkları çalışmada Vİ odaklarını elastin ve h-caldesmon kullanarak göstermeye çalışmışlardır. Özellikle müsinöz adenokarsinomlarda H&E boyalı lamlarda %9, elastin boyalı lamlarda %18 olan Vİ oranı H-caldesmon ile %30'a yükselmiştir. Ayrıca bu çalışmada elastin boyasında stromada boyanma olduğundan elastin boyasını değerlendirmenin daha zor olduğu belirtilmiştir (140). Tüm bu çalışmalarda H&E boyasında Vİ değerlendirilirken kullanılan göstergeler "orphan arteriol" ve "protruding tongue"dır.

Çalışmamızda H&E boyalı preparatlar taranmış ve literatüre uygun olarak "orphan arteriol" ve "protruding tongue" belirtileri aranmış olup şüphelenilen odaklara immünohistokimyasal belirteçler uygulanmıştır. Şaşırtıcı bir şekilde sadece şüphelenilen odakların değil, H&E boyasında fark edilemeyen yahut mevcut kriterlerle öngörüleemeyebilen bazı Vİ odaklarında da boyanma görülmüştür (X odakları). Bu odaklara yakından bakıldığında H&E boyalı preparatlarda çevrelerinde eozinofili içerdikleri göze çarpmıştır. Bu odaklar H&E boyasında ayırt edilemediği için özel boyama yöntemleri olmadan gözden kaçırılmaktadır. Literatüre bakıldığında bu odaklardan bahseden çalışma bulunamamıştır.

Çalışmamızda, Vİ ve özellikle kolorektal adenokarsinomda Vİ varlığını saptamakta faydalı olduğu öne sürülen ve damar duvarında normal olarak

bulunduğu bilinen “elastin” liflerinin histokimyasal yöntemlerle “gözlemlenebilmesini” öneren çalışmalarını irdeleyerek oluşturduğumuz, ekibimizin yayınlamaya hazır hale getirmeye devam ettiği ve henüz yayınlanmamış verilerimiz ışığında, damar duvarındaki düz kas liflerinin, elastin liflerindense, immünohistokimyasal yaklaşımla, damar duvarlarında -en küçük çaplarda olanlar dışında- her zaman bulunan düz kas hücrelerinin kontraktif filamentlerine özgün antikorlar ile, venöz invazyonu saptamada açık olarak daha etkin olduğunu göstermiş olduğumuz öncül çalışmamıza istinaden tasarlanan bir aksiyom kabul edilmiş ve hipotezimiz bu yönde kurulmuştur. Bu öncül çalışmamızda, damar düz kas sitoplazmasında bulunan h-caldesmon, desmin antikorları ile Von Gieson ve Verhoeff elastin lifi histokimyasal boyama yetileri kıyaslanmıştır. Henüz basılmamış olan bu verilerimize göre, elastin liflerinin histokimyasal olarak aydınlatılmasına –her ne kadar çok verimli ve literatüre göre uygun görülse de- kıyasla, belirtilen düz kas kontraktif antijenlerine yönelik antikorların, immünohistokimyasal yöntem ile ortaya çıkarılması anlamlı bulunmuştur (yayınlanmamış veriler).

Vİ odaklarına bakıldığında çalışmamızda en çok saptanan odak tipi “A”dır. Bu durum “orphan arteriol” görünümünün Vİ için spesifik bir bulgu olduğunu göstermektedir. Kolon ve mide adenokarsinomlarına bakıldığında A tipi odakların daha çok ekstramural olduğu görülmüştür. Fakat daha önemlisi, mide adenokarsinomlarında X tipi odakların daha çok intramural olduğu izlenmiştir. Bu durum, mide adenokarsinomunda rutin H&E boyası ile intramural Vİ odaklarının

gözden kaçabildiğini düşündürmektedir. F tipi odaklar çalışmamızda tanım gereği ektramuraldir ve daha çok kolonda görülmüştür.

Yapılan birçok çalışmada ektramural venöz invazyonun bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmiş olmasına karşın (14, 19, 21, 141, 142), intramural venöz invazyonun prognostik önemi olduğunu ortaya koyan sadece 1 çalışma vardır (20). Çalışmamızda kolon ve mide kanseri olan 9 hastanın 106 adet Vİ odağının organ duvarındaki yeri incelenmiştir. Neoadjuvan kemoterapi alan 1 rektum adenokarsinomu dışındaki tüm olgularda hem intramural hem de ektramural Vİ odakları saptanmıştır.

Çalışmamızda, SMM ve transgelin, öncelikle pozitif (0) ve negatif (1) olarak değerlendirilmiştir. Tüm venöz invazyon odaklarında transgelin ve SMM karşılaştırması yapıldığında transgelinin SMM'ye göre üstün bir belirteç olduğu görülmüştür ($p<0,001$). A tipi ve F tipi odaklarda da transgelin SMM'ye oranla Vİ'yi göstermede üstün bir belirteçtir (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,10$).

X tipi odaklara bakıldığında tanımlı gereği “herhangi bir belirteç ile pozitif olan” bu odakların tamamı transgelin ile pozitif olup, %97,3'ü SMM ile pozitifdir.

Çalışmamızda, immünohistokimyasal boyanma skorları, negatif ve pozitif olmaya ek olarak damar yapısının çembersel çevresini pozitif boyama yeteneğinin niceliğine göre 0, +1, +2 ve +3 skorları ile de irdelenmiştir. Bu ayrıntılı skorlamayı uygulamamızın arkasında, rutin uygulamada ilgili belirtecin araştırılan bir odakta “gözden kaçamayacak” kadar tam çevresel boyama ortaya koyup koyamayacağının araştırılması girişimi mevcuttur. Bu yönde uyguladığımız

istatistiksel değerlendirme, çok y6nl6 değerlendirilebilecek sonuçlar vermiş olup, istatistiksel olarak anlamlı olabilecek matematiksel veri elde edememiş olsak da, mevcut tablolar ile aşağıdaki yorumlar yapılmıştır.

T6m odaklar beraber ele alındığında; SMM'nin 0 olduğu 21 odağın 10'unda, SMM'nin +1 olduğu 11 odağın 9'unda ve SMM'nin +2 olduğu 29 odağın 20'sinde transgelin +3 skoru almıştır. SMM ve transgelinin ikisinin de +3 skoru aldığı toplam 165 odak mevcuttur. SMM'nin 0 aldığı 21 odak arasında transgelinin +3 olduğu 10 odak mevcutken, transgelinin 0 aldığı 9 odak arasında sadece 2'si SMM ile +3 skoru almış olup, bu odaklar arasında SMM'nin +1 veya +2 skoru aldığı bir odak yoktur. Bu veriler, transgelinin SMM'ye kıyasla, pozitifliğin +1, +2 ve +3 olarak ayrımlandığı skorlama y6ntemine g6re daha duyarlı olduğunu d6ř6nd6rmektedir. SMM'nin negatif olduğu 10 odakta transgelin ile +2 ve +3 şiddetinde boyanma g6r6lmesine rağmen transgelinin negatif olduğu hiçbir odakta SMM ile boyanma g6sterilememiştir.

A tipi odaklarda, transgelin ve SMM'nin her ikisinin de 0 aldığı 3 odak dışında, SMM'nin negatif olduğu toplam 25 odakta transgelin +2 veya +3 skoru almıştır. SMM'nin +1, +2 ve +3 skoru aldığı toplam 116 odağın, 100'6nde transgelin +3 alırken, 14'6nde +2 ve 2'sinde +1 skoru almıştır. Bu veriler, transgelin antikorumun A tipi odaklarda ven duvarlarını daha duyarlı olarak ortaya koyabildiğini d6ř6nd6rm6ştir.

X tipi odaklarda negatif- pozitif ayırımının istatistiksel olarak anlamsız olduğuna ek olarak, 0, +1, +2, +3 skorlama yaklaşımında da anlamlı olabilecek bir yorum / g6zlem yapılamamıştır. Bu sonuç, mide, pankreas ve kolorektum

adenokarsinomlarında, H&E inceleme ile kuşku lanılamayacak, alışmamızda “X tipi” olarak nitelendirdiğimiz odakların ortaya çıkarılmasında hem transgelin hem de SMM'nin kullanılabilceğini düşündürmüştür.

Serbest tümör depozitlerinde (F tipi), transgelin ve SMM'nin kıyaslanmasında bu odaklarda SMM'nin tek başına pozitif olduğu bir odak saptanmamışken, transgelinin 6 odakta tek başına, 18 odakta ise SMM ile beraber pozitif olduğu belirlenmiştir. Bu veri ve saptamalar ışığında, transgelinin bu odak tipinde de SMM'ye göre üstün olduğu ($p=0,01$) düşünülmüştür. Bu odakların, aşağıda da değinilecek olduğu gibi, ven invazyonu mu lenf nodu metastazı mı olduğu kesin olarak belirlenmemektedir; lakin normal lenf nodu kapsülünde de tıpkı normal damar duvarında olduğu gibi düz kas lifleri olduğu gözlenmiştir. Transgelin ve SMM bu odakların 10'unda (%35,7) beraberce negatiftir. Bu negatif odaklar için, adenokarsinomun ven damar duvarını yahut lenf nodu kapsülünü tümüyle ortadan kaldıracacak şekilde hasarladığı düşünülebilir. Pozitifliğin elde edilebildiği 18 odak ile bu negatif odakların morfolojik görünümleri benzer olarak gözlemlenmiş olduğundan, her iki düz kas belirteci ile de pozitiflik elde edilemeyen bu 10 odak bu yönde yorumlanabilir.

Günümüz histopatolojik değerlendirme, immünhistokimyasal antikor kullanımında SMM, rutin çalışmada düz kas hcreti kökenini, meme lezyonlarında myoepitelyal hücreyi aydınlatmada kullanılan bir antikor olmakla birlikte transgelin, henüz deneysel/ araştırma maksatlı uygulamadadır. Çalışmamızın verilerine göre transgelin daha duyarlı bir belirteç olarak

saptandığından, Vİ ve TD değerlendirilmesinde kullanılmak için önerilmeyi hak etmektedir.

Vİ'nin gösterilmesinde SMM, transgelin ya da smoothelin kullanılması ile ilgili taranabilen ve ulaşılabilen İngilizce literatürde çalışma bulunmamaktadır.

SMM ve transgelin düz kas belirteçleri olduğu için m \ddot{u} sk \ddot{u} laris propria ve m \ddot{u} sk \ddot{u} laris mukoza \mathring{c} evresindeki Vİ odaklarının değerlendirilmesi mümkün olmamıştır. Fakat Vİ tanısında düz kas belirteçlerinin kullanılmasının ikincil bir yararı olarak, invazyon derinliği hakkında arada kalınan olgularda düz kas belirteçlerinin m \ddot{u} sk \ddot{u} laris propriada ekspresyon göstermeleri sonucunda pT evresi kesin olarak söylenebilecektir. Normal lenf nodu kapsülünde her iki belirteçle de pozitif boyanma gör \ddot{u} lmüştür. Ayrıca pankreasta Wirsung ve büyük safra duktusları \mathring{c} evresinde normalde düz kas tabakası gör \ddot{u} lebilmekte olup bu alanlar Vİ olarak değerlendirilmeden önce mutlaka nükleer atipi varlığı araştırılmalıdır. Bunun yanında, SMM ile folik \ddot{u} ler dendritik hücre ağı pozitif olabildiğinden zeminde lenfositlerin ve/ veya lenfoid folik \ddot{u} llerin olduğu odaklar değerlendirilirken dikkatli olunmalıdır.

Çalışmamızda uygulanan 4 imm \ddot{u} nhistokimyasal belirteçten CD31'in venöz invazyonu saptamada transgelin ve SMM kadar başarılı ve kolay bir yöntem olmadığı gösterilmiştir. Van Wyk ve arkadaşları da CD31, D2-40 ve elastin boyaları ile yaptıkları çalışmada elastin boyasının damar invazyonunu saptamada CD31'e kıyasla daha iyi bir yöntem olduğunu ve venöz invazyonun kolorektal kanserde bağımsız prognostik faktör olduğunu göstermiştir (143). Ayrıca Bonsib ve arkadaşları, retrograd venöz invazyonu araştırdıkları, 115 renal

hücreli karsinom olgusu içeren, elastin, trikrom, CD31 ve desmin kullanarak yaptıkları çalışmada, CD31 ile bazı venlerde endotelial dölşeyici epitelin gösterilebildiğini, ancak intravenöz büyüyen ve interstisyumu infiltre eden tümörlerde endotel silindiğinden, CD31'in negatif olduğunu göstermişlerdir. Desmin ve trikrom ile ancak intralober ve daha büyük venlerin invazyonlarında damar duvarının gösterilebileceğini savunmuşlardır (144).

Son zamanlarda kolorektal karsinomlarda tümör depozitlerinin pozitif lenf nodu olarak sayılması oldukça tartışılan bir konudur. Belt ve arkadaşları (145), pN1c olarak kabul edilen evre II kolon karsinomlarının evre III olarak kabul edilmesi gerektiğini, Song ve arkadaşları (128) ise TD'lerin pozitif lenf nodu olarak kabul edilebileceğini savunmaktadır. Ueno ve arkadaşları toplam 695 hasta ile yaptıkları çalışmada TD'lerin küratif cerrahi geçiren kolorektal karsinomlu hastaların postoperatif sağ kalımını etkileyen önemli bir faktör olduğunu göstermişlerdir (146). Bizim çalışmamızda da tümör depozitleri hem SMM hem de transgelin ile kısmen de olsa pozitif olarak gösterilebilmiş ancak, normal lenf nodlarının kapsüllerinde de düz kas belirteçlerinin ekspresyonu görülebildiği için bu odakların pozitif lenf nodu ya da Vİ olduğu konusunda ayırım yapılamamıştır. Yine de, Vİ veya serbest TD varlığının, lenf nodu metastazı olmayan olgularda pN1c şeklinde ele alınarak adjuvan kemo/ radyoterapi uygulamaya yönelmesine neden olduğu göz önüne alındığında SMM ve/ veya transgelin pozitifliğinin F tipi bir odakta (ven- lenf nodu ayırımı yapılamayacak olsa da) görülmesi değerli bir bulgu olarak düşünülmüştür.

6. SONUÇLAR

1. H&E boyalı lamlarda, literatürdeki veriler göz önüne alınıp kullanıldığında dahi kuşkulanamayacak, çalışmamızda ancak ek yöntemler ile ortaya çıkarılabildiğini gösterdiğimiz damar invazyonu odakları mevcuttur. Bu çalışmada olası bir ön sınıflama teriminin kısaltması adına bu odaklar “X” olarak adlandırılmıştır.

2. Smoothelin, vasküler yapıların düz kas tabakasında eksprese olmadığından venöz invazyon için kullanımı uygun olmayan bir belirteçtir.

3. Kan ve lenf damarlarının iç yüzeyinde bulunan endotel hücrelerdeki bir proteine özgün olan CD31 antikörünün, tümör invazyonuna uğramış bir damarda erken dönemde endotel hücresinin hasarlanarak ortadan kaybolabileceği hipotezine ikincil olarak ve bu bağlamda, damar invazyonu varlığını araştırmada çok yetersiz olabildiği saptanmıştır.

4. Transgelin ve SMM, Vİ'yi saptamada CD31 ve smootheline göre daha etkilidir.

5. Transgelin, Vİ'yi saptamada SMM'den üstündür ($p < 0,001$).

6. “Orphan arteriol” saptandığında bu Vİ odaklarının gösterilmesinde SMM'den üstün bir belirteçtir ($p = 0,001$).

7. TD'lerin saptanmasında transgelin SMM'den üstündür ($p=0,010$). Fakat pozitif olan TD'lerin metastatik lenf nodu ya da venöz invazyon olduğu konusunda ayırım yapılamamıştır.

8. SMM ve transgelin ile negatif olan %35,8 tümör depozitinin adenokarsinom tarafından tümü ile ortadan kaldırılmış ven duvarı ya da lenf nodu olduğu düşünülmüştür.



7. KAYNAKLAR

1. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Annals of surgical oncology*. 2010;17(6):1471-4.
2. Compton CC. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2003;16(4):376-88.
3. Blenkinsopp WK, Stewart-Brown S, Blesovsky L, Kearney G, Fielding LP. Histopathology reporting in large bowel cancer. *Journal of clinical pathology*. 1981;34(5):509-13.
4. Mayo E, Llanos AA, Yi X, Duan SZ, Zhang L. Prognostic Value of Tumor Deposit and Perineural Invasion Status in Colorectal Cancer Patients: a SEER-Based Population Study. *Histopathology*. 2016.

5. Ersen A, Unlu MS, Akman T, Sagol O, Oztop I, Atila K, et al. Tumor deposits in gastric carcinomas. Pathology, research and practice. 2014;210(9):565-70.
6. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. Gut. 2016.
7. SAĞLIK İSTATİSTİKLERİ YILLIĞI ANKARA: TÜRKİYE CUMHURİYETİ SAĞLIK BAKANLIĞI; 2010.
8. Roxburgh CS, McMillan DC, Anderson JH, McKee RF, Horgan PG, Foulis AK. Elastica staining for venous invasion results in superior prediction of cancer-specific survival in colorectal cancer. Annals of surgery. 2010;252(6):989-97.
9. Stewart CJ, Morris M, de Boer B, Iacopetta B. Identification of serosal invasion and extramural venous invasion on review of Dukes' stage B colonic carcinomas and correlation with survival. Histopathology. 2007;51(3):372-8.
10. Compton CC. Pathology report in colon cancer: what is prognostically important? Digestive diseases. 1999;17(2):67-79.

11. Shepherd NA, Saraga EP, Love SB, Jass JR. Prognostic factors in colonic cancer. *Histopathology*. 1989;14(6):613-20.
12. Edge S, Byrd, D.R., Compton, C.C., Fritz, A.G., Greene, F.L., Trotti, A. *The AJCC Cancer Staging Manual (7th ed.)*. Edge S, Byrd, D.R., Compton, C.C., Fritz, A.G., Greene, F.L., Trotti, A., editor. New York: NY, Springer; 2009.
13. Talbot IC, Ritchie S, Leighton MH, Hughes AO, Bussey HJ, Morson BC. The clinical significance of invasion of veins by rectal cancer. *The British journal of surgery*. 1980;67(6):439-42.
14. Freedman LS, Macaskill P, Smith AN. Multivariate analysis of prognostic factors for operable rectal cancer. *Lancet*. 1984;2(8405):733-6.
15. Domergue J, Rouanet P, Daures JP, Dubois JB, Joyeux H, Solassol C, et al. Multivariate analysis of prognostic factors for curative resectable rectal cancer. *European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*. 1989;15(2):93-8.
16. Jatzko GR, Jagoditsch M, Lisborg PH, Denk H, Klimpfinger M, Stettner HM. Long-term results of radical surgery for rectal cancer: multivariate analysis of prognostic factors influencing survival and local recurrence. *European*

journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical

Oncology and the British Association of Surgical Oncology. 1999;25(3):284-91.

17. Chapuis PH, Dent OF, Fisher R, Newland RC, Pheils MT, Smyth E, et al. A multivariate analysis of clinical and pathological variables in prognosis after resection of large bowel cancer. The British journal of surgery. 1985;72(9):698-702.

18. Newland RC, Dent OF, Lyttle MN, Chapuis PH, Bokey EL. Pathologic determinants of survival associated with colorectal cancer with lymph node metastases. A multivariate analysis of 579 patients. Cancer. 1994;73(8):2076-82.

19. Heys SD, Sherif A, Bagley JS, Brittenden J, Smart C, Eremin O. Prognostic factors and survival of patients aged less than 45 years with colorectal cancer. The British journal of surgery. 1994;81(5):685-8.

20. Petersen VC, Baxter KJ, Love SB, Shepherd NA. Identification of objective pathological prognostic determinants and models of prognosis in Dukes' B colon cancer. Gut. 2002;51(1):65-9.

21. Harrison JC, Dean PJ, el-Zeky F, Vander Zwaag R. From Dukes through Jass: pathological prognostic indicators in rectal cancer. *Human pathology*. 1994;25(5):498-505.
22. Horn A, Dahl O, Morild I. Venous and neural invasion as predictors of recurrence in rectal adenocarcinoma. *Diseases of the colon and rectum*. 1991;34(9):798-804.
23. Quirke P, Morris E. Reporting colorectal cancer. *Histopathology*. 2007;50(1):103-12.
24. Morris M, Platell C, de Boer B, McCaul K, Iacopetta B. Population-based study of prognostic factors in stage II colonic cancer. *The British journal of surgery*. 2006;93(7):866-71.
25. Sato T, Ueno H, Mochizuki H, Shinto E, Hashiguchi Y, Kajiwara Y, et al. Objective criteria for the grading of venous invasion in colorectal cancer. *The American journal of surgical pathology*. 2010;34(4):454-62.
26. Washington MK, Berlin J, Branton P, Burgart LJ, Carter DK, Fitzgibbons PL, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2009;133(10):1539-51.

27. Messenger DE, Driman DK, Kirsch R. Developments in the assessment of venous invasion in colorectal cancer: implications for future practice and patient outcome. *Human pathology*. 2012;43(7):965-73.

28. Kirsch R, Messenger DE, Riddell RH, Pollett A, Cook M, Al-Haddad S, et al. Venous invasion in colorectal cancer: impact of an elastin stain on detection and interobserver agreement among gastrointestinal and nongastrointestinal pathologists. *The American journal of surgical pathology*. 2013;37(2):200-10.

29. Betge J, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Kornprat P, Schlemmer A, Rehak P, et al. Intramural and extramural vascular invasion in colorectal cancer: prognostic significance and quality of pathology reporting. *Cancer*. 2012;118(3):628-38.

30. Kodner IJ RD. Colon, Rectum and Anus, *Principles of Surgery*, Schwartz1999. 1284-90 p.

31. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx 2012 [cited 2016 6 May].

32. Kaneko S, Yoshimura T. Time trend analysis of gastric cancer incidence in Japan by histological types, 1975-1989. *British journal of cancer*. 2001;84(3):400-5.
33. Gonzalez CA, Pera G, Agudo A, Palli D, Krogh V, Vineis P, et al. Smoking and the risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *International journal of cancer*. 2003;107(4):629-34.
34. Lee SA, Kang D, Shim KN, Choe JW, Hong WS, Choi H. Effect of diet and *Helicobacter pylori* infection to the risk of early gastric cancer. *Journal of epidemiology / Japan Epidemiological Association*. 2003;13(3):162-8.
35. Nozaki K, Tsukamoto T, Tatematsu M. [Effect of high salt diet and *Helicobacter pylori* infection on gastric carcinogenesis]. *Nihon rinsho Japanese journal of clinical medicine*. 2003;61(1):36-40.
36. Kondo K. Duodenogastric reflux and gastric stump carcinoma. *Gastric cancer : official journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association*. 2002;5(1):16-22.
37. Sinning C, Schaefer N, Standop J, Hirner A, Wolff M. Gastric stump carcinoma - epidemiology and current concepts in pathogenesis and treatment.

European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of
Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology.
2007;33(2):133-9.

38. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, et
al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. The Lancet
Oncology. 2009;10(4):321-2.

39. Olmez S, Aslan M, Erten R, Sayar S, Bayram I. The Prevalence of
Gastric Intestinal Metaplasia and Distribution of Helicobacter pylori Infection,
Atrophy, Dysplasia, and Cancer in Its Subtypes. Gastroenterology research and
practice. 2015;2015:434039.

40. Craanen ME, Blok P, Dekker W, Ferwerda J, Tytgat GN. Subtypes of
intestinal metaplasia and Helicobacter pylori. Gut. 1992;33(5):597-600.

41. Fraser AG, Peng SL, Jass JR. Intestinal metaplasia subtypes and
Helicobacter pylori infection: a comparison of ethnic groups in New Zealand.
Journal of gastroenterology and hepatology. 1998;13(6):560-5.

42. Qiao YL, Dawsey SM, Kamangar F, Fan JH, Abnet CC, Sun XD, et
al. Total and cancer mortality after supplementation with vitamins and minerals:

follow-up of the Linxian General Population Nutrition Intervention Trial. Journal of the National Cancer Institute. 2009;101(7):507-18.

43. Nakamura K, Ueyama T, Yao T, Xuan ZX, Ambe K, Adachi Y, et al. Pathology and prognosis of gastric carcinoma. Findings in 10,000 patients who underwent primary gastrectomy. Cancer. 1992;70(5):1030-7.

44. Talamonti MS, Kim SP, Yao KA, Wayne JD, Feinglass J, Bennett CL, et al. Surgical outcomes of patients with gastric carcinoma: the importance of primary tumor location and microvessel invasion. Surgery. 2003;134(4):720-7; discussion 7-9.

45. Fotia G, Marrelli D, De Stefano A, Pinto E, Roviello F. Factors influencing outcome in gastric cancer involving muscularis and subserosal layer. European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology. 2004;30(9):930-4.

46. Mansour JC, Tang L, Shah M, Bentrem D, Klimstra DS, Gonen M, et al. Does graded histologic response after neoadjuvant chemotherapy predict survival for completely resected gastric cancer? Annals of surgical oncology. 2007;14(12):3412-8.

47. An JY, Baik YH, Choi MG, Noh JH, Sohn TS, Kim S. Predictive factors for lymph node metastasis in early gastric cancer with submucosal invasion: analysis of a single institutional experience. *Annals of surgery*. 2007;246(5):749-53.

48. Mohammed RA, Martin SG, Gill MS, Green AR, Paish EC, Ellis IO. Improved methods of detection of lymphovascular invasion demonstrate that it is the predominant method of vascular invasion in breast cancer and has important clinical consequences. *The American journal of surgical pathology*. 2007;31(12):1825-33.

49. Zlobec I, Baker K, Minoo P, Jass JR, Terracciano L, Lugli A. Node-negative colorectal cancer at high risk of distant metastasis identified by combined analysis of lymph node status, vascular invasion, and Raf-1 kinase inhibitor protein expression. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008;14(1):143-8.

50. Mete O, Asa SL. Pathological definition and clinical significance of vascular invasion in thyroid carcinomas of follicular epithelial derivation. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2011;24(12):1545-52.

51. Maeda R, Yoshida J, Ishii G, Hishida T, Nishimura M, Nagai K.
Prognostic impact of intratumoral vascular invasion in non-small cell lung cancer patients. *Thorax*. 2010;65(12):1092-8.
52. Pichler M, Hutterer GC, Chromecki TF, Jesche J, Groselj-Strele A, Kampel-Kettner K, et al. Prognostic value of the Leibovich prognosis score supplemented by vascular invasion for clear cell renal cell carcinoma. *The Journal of urology*. 2012;187(3):834-9.
53. Kikuchi E, Margulis V, Karakiewicz PI, Roscigno M, Mikami S, Lotan Y, et al. Lymphovascular invasion predicts clinical outcomes in patients with node-negative upper tract urothelial carcinoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2009;27(4):612-8.
54. Bu Z, Zheng Z, Li Z, Zhang L, Wu A, Wu X, et al. Lymphatic vascular invasion is an independent correlated factor for lymph node metastasis and the prognosis of resectable T2 gastric cancer patients. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2013;34(2):1005-12.
55. Setälä LP, Kosma VM, Marin S, Lipponen PK, Eskelinen MJ, Syrjänen KJ, et al. Prognostic factors in gastric cancer: the value of vascular

invasion, mitotic rate and lymphoplasmacytic infiltration. British journal of cancer. 1996;74(5):766-72.

56. Maehara Y, Kabashima A, Koga T, Tokunaga E, Takeuchi H, Kakeji Y, et al. Vascular invasion and potential for tumor angiogenesis and metastasis in gastric carcinoma. Surgery. 2000;128(3):408-16.

57. Cao F, Hu YW, Li P, Liu Y, Wang K, Ma L, et al. Lymphangiogenic and angiogenic microvessel density in chinese patients with gastric carcinoma: correlation with clinicopathologic parameters and prognosis. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP. 2013;14(8):4549-52.

58. Kim JH, Park SS, Park SH, Kim SJ, Mok YJ, Kim CS, et al. Clinical significance of immunohistochemically-identified lymphatic and/or blood vessel tumor invasion in gastric cancer. The Journal of surgical research. 2010;162(2):177-83.

59. Gresta LT, Rodrigues-Junior IA, de Castro LP, Cassali GD, Cabral MM. Assessment of vascular invasion in gastric cancer: a comparative study. World journal of gastroenterology. 2013;19(24):3761-9.

60. Fang Y, Yao Q, Chen Z, Xiang J, William FE, Gibbs RA, et al. Genetic and molecular alterations in pancreatic cancer: implications for

personalized medicine. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2013;19:916-26.

61. Matsubara J, Okusaka T, Morizane C, Ikeda M, Ueno H. Ultrasound-guided percutaneous pancreatic tumor biopsy in pancreatic cancer: a comparison with metastatic liver tumor biopsy, including sensitivity, specificity, and complications. *Journal of gastroenterology*. 2008;43(3):225-32.

62. Berrino F, De Angelis R, Sant M, Rosso S, Bielska-Lasota M, Coebergh JW, et al. Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EUROCORE-4 study. *The Lancet Oncology*. 2007;8(9):773-83.

63. Zhang Q, Zeng L, Chen Y, Lian G, Qian C, Chen S, et al. Pancreatic Cancer Epidemiology, Detection, and Management. *Gastroenterology research and practice*. 2016;2016:8962321.

64. Adsay NV, Basturk O, Bonnett M, Kilinc N, Andea AA, Feng J, et al. A proposal for a new and more practical grading scheme for pancreatic ductal adenocarcinoma. *The American journal of surgical pathology*. 2005;29(6):724-33.

65. Giulianotti PC, Boggi U, Fornaciari G, Bruno J, Rossi G, Giardino D, et al. Prognostic value of histological grading in ductal adenocarcinoma of the

pancreas. Kloppel vs TNM grading. International journal of pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology. 1995;17(3):279-89.

66. Ryan R, Gibbons D, Hyland JM, Treanor D, White A, Mulcahy HE, et al. Pathological response following long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. Histopathology. 2005;47(2):141-6.

67. Breslin TM, Hess KR, Harbison DB, Jean ME, Cleary KR, Dackiw AP, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy for adenocarcinoma of the pancreas: treatment variables and survival duration. Annals of surgical oncology. 2001;8(2):123-32.

68. Kuhlmann K, de Castro S, van Heek T, Busch O, van Gulik T, Obertop H, et al. Microscopically incomplete resection offers acceptable palliation in pancreatic cancer. Surgery. 2006;139(2):188-96.

69. Garcea G, Dennison AR, Ong SL, Pattenden CJ, Neal CP, Sutton CD, et al. Tumour characteristics predictive of survival following resection for ductal adenocarcinoma of the head of pancreas. European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology. 2007;33(7):892-7.

70. D.E. B. Anatomy of the Pancreas. Chapter 1. In: The Pancreas: Biology, Pathobiology, and Disease, Second Edition. Go VLW ea, editor. New York: Raven Press Ltd.; 1993. 1-8 p.

71. Drake RLV, Wayne; Tibbitts, Adam W.M. Mitchell. Gray's anatomy for students. Philadelphia: Elsevier/Churchill Livingstone; 2005. 288–90, 97, 303 p.

72. Schultz NA, Roslind A, Christensen IJ, Horn T, Hogdall E, Pedersen LN, et al. Frequencies and prognostic role of KRAS and BRAF mutations in patients with localized pancreatic and ampullary adenocarcinomas. *Pancreas*. 2012;41(5):759-66.

73. Berberat PO, Kunzli BM, Gulbinas A, Ramanauskas T, Kleeff J, Muller MW, et al. An audit of outcomes of a series of periampullary carcinomas. *European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*. 2009;35(2):187-91.

74. Roder JD, Schneider PM, Stein HJ, Siewert JR. Number of lymph node metastases is significantly associated with survival in patients with radically

resected carcinoma of the ampulla of Vater. The British journal of surgery. 1995;82(12):1693-6.

75. Allema JH, Reinders ME, van Gulik TM, van Leeuwen DJ, Verbeek PC, de Wit LT, et al. Results of pancreaticoduodenectomy for ampullary carcinoma and analysis of prognostic factors for survival. Surgery. 1995;117(3):247-53.

76. Hsu HP, Yang TM, Hsieh YH, Shan YS, Lin PW. Predictors for patterns of failure after pancreaticoduodenectomy in ampullary cancer. Annals of surgical oncology. 2007;14(1):50-60.

77. Beger HG, Treitschke F, Gansauge F, Harada N, Hiki N, Mattfeldt T. Tumor of the ampulla of Vater: experience with local or radical resection in 171 consecutively treated patients. Archives of surgery. 1999;134(5):526-32.

78. Bouvet M, Gamagami RA, Gilpin EA, Romeo O, Sasson A, Easter DW, et al. Factors influencing survival after resection for periampullary neoplasms. American journal of surgery. 2000;180(1):13-7.

79. Bettschart V, Rahman MQ, Engelken FJ, Madhavan KK, Parks RW, Garden OJ. Presentation, treatment and outcome in patients with ampullary tumours. The British journal of surgery. 2004;91(12):1600-7.

80. Kramer J, Aguirre-Arteta AM, Thiel C, Gross CM, Dietz R, Cardoso MC, et al. A novel isoform of the smooth muscle cell differentiation marker smoothelin. *Journal of molecular medicine*. 1999;77(2):294-8.

81. van der Loop FT, Schaart G, Timmer ED, Ramaekers FC, van Eys GJ. Smoothelin, a novel cytoskeletal protein specific for smooth muscle cells. *The Journal of cell biology*. 1996;134(2):401-11.

82. Engelen JJ, Esterling LE, Albrechts JC, Detera-Wadleigh SD, van Eys GJ. Assignment of the human gene for smoothelin (SMTN) to chromosome 22q12 by fluorescence in situ hybridization and radiation hybrid mapping. *Genomics*. 1997;43(2):245-7.

83. van der Loop FT, Gabbiani G, Kohnen G, Ramaekers FC, van Eys GJ. Differentiation of smooth muscle cells in human blood vessels as defined by smoothelin, a novel marker for the contractile phenotype. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1997;17(4):665-71.

84. Chambers RC, Leoni P, Kaminski N, Laurent GJ, Heller RA. Global expression profiling of fibroblast responses to transforming growth factor-beta1 reveals the induction of inhibitor of differentiation-1 and provides evidence of

smooth muscle cell phenotypic switching. *The American journal of pathology*. 2003;162(2):533-46.

85. Paner GP, Shen SS, Lapetino S, Venkataraman G, Barkan GA, Quek ML, et al. Diagnostic utility of antibody to smoothelin in the distinction of muscularis propria from muscularis mucosae of the urinary bladder: a potential ancillary tool in the pathologic staging of invasive urothelial carcinoma. *The American journal of surgical pathology*. 2009;33(1):91-8.

86. Maake C, Landman M, Wang X, Schmid DM, Ziegler U, John H. Expression of smoothelin in the normal and the overactive human bladder. *The Journal of urology*. 2006;175(3 Pt 1):1152-7.

87. Thweatt R, Lumpkin CK, Jr., Goldstein S. A novel gene encoding a smooth muscle protein is overexpressed in senescent human fibroblasts. *Biochemical and biophysical research communications*. 1992;187(1):1-7.

88. Kobayashi R, Kubota T, Hidaka H. Purification, characterization, and partial sequence analysis of a new 25-kDa actin-binding protein from bovine aorta: a SM22 homolog. *Biochemical and biophysical research communications*. 1994;198(3):1275-80.

89. Assinder SJ, Stanton JA, Prasad PD. Transgelin: an actin-binding protein and tumour suppressor. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2009;41(3):482-6.

90. Dvorakova M, Nenutil R, Bouchal P. Transgelins, cytoskeletal proteins implicated in different aspects of cancer development. *Expert review of proteomics*. 2014;11(2):149-65.

91. Prasad PD, Stanton JA, Assinder SJ. Expression of the actin-associated protein transgelin (SM22) is decreased in prostate cancer. *Cell and tissue research*. 2010;339(2):337-47.

92. Zhao L, Wang H, Deng YJ, Wang S, Liu C, Jin H, et al. Transgelin as a suppressor is associated with poor prognosis in colorectal carcinoma patients.

Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2009;22(6):786-96.

93. Qi Y, Chiu JF, Wang L, Kwong DL, He QY. Comparative proteomic analysis of esophageal squamous cell carcinoma. *Proteomics*. 2005;5(11):2960-71.

94. Lawson D, Harrison M, Shapland C. Fibroblast transgelin and smooth muscle SM22alpha are the same protein, the expression of which is down-regulated in many cell lines. *Cell motility and the cytoskeleton*. 1997;38(3):250-7.

95. Yeo M, Park HJ, Kim DK, Kim YB, Cheong JY, Lee KJ, et al. Loss of SM22 is a characteristic signature of colon carcinogenesis and its restoration suppresses colon tumorigenicity in vivo and in vitro. *Cancer*. 2010;116(11):2581-9.

96. Yang Z, Chang YJ, Miyamoto H, Ni J, Niu Y, Chen Z, et al. Transgelin functions as a suppressor via inhibition of ARA54-enhanced androgen receptor transactivation and prostate cancer cell growth. *Molecular endocrinology*. 2007;21(2):343-58.

97. Huang Q, Huang Q, Chen W, Wang L, Lin W, Lin J, et al. Identification of transgelin as a potential novel biomarker for gastric adenocarcinoma based on proteomics technology. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2008;134(11):1219-27.

98. Lin Y, Buckhaults PJ, Lee JR, Xiong H, Farrell C, Podolsky RH, et al. Association of the actin-binding protein transgelin with lymph node metastasis in human colorectal cancer. *Neoplasia*. 2009;11(9):864-73.

99. Adelstein RS, Eisenberg E. Regulation and kinetics of the actin-myosin-ATP interaction. Annual review of biochemistry. 1980;49:921-56.

100. Babij P, Kelly C, Periasamy M. Characterization of a mammalian smooth muscle myosin heavy-chain gene: complete nucleotide and protein coding sequence and analysis of the 5' end of the gene. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1991;88(23):10676-80.

101. Sartore S, De Marzo N, Borriore AC, Zanellato AM, Saggin L, Fabbri L, et al. Myosin heavy-chain isoforms in human smooth muscle. European journal of biochemistry / FEBS. 1989;179(1):79-85.

102. Benzonana G, Skalli O, Gabbiani G. Correlation between the distribution of smooth muscle or non muscle myosins and alpha-smooth muscle actin in normal and pathological soft tissues. Cell motility and the cytoskeleton. 1988;11(4):260-74.

103. Larson DM, Fujiwara K, Alexander RW, Gimbrone MA, Jr. Myosin in cultured vascular smooth muscle cells: immunofluorescence and immunochemical studies of alterations in antigenic expression. The Journal of cell biology. 1984;99(5):1582-9.

104. Stacey E. Mills. Histology for Pathologists. Virginia 2012. 136-9 p.

105.Ohto H, Maeda H, Shibata Y, Chen RF, Ozaki Y, Higashihara M, et al. A novel leukocyte differentiation antigen: two monoclonal antibodies TM2 and TM3 define a 120-kd molecule present on neutrophils, monocytes, platelets, and activated lymphoblasts. *Blood*. 1985;66(4):873-81.

106.Goyert SM, Ferrero EM, Seremetis SV, Winchester RJ, Silver J, Mattison AC. Biochemistry and expression of myelomonocytic antigens. *Journal of immunology*. 1986;137(12):3909-14.

107.Albelda SM, Oliver PD, Romer LH, Buck CA. EndoCAM: a novel endothelial cell-cell adhesion molecule. *The Journal of cell biology*. 1990;110(4):1227-37.

108.Newman PJ, Berndt MC, Gorski J, White GC, 2nd, Lyman S, Paddock C, et al. PECAM-1 (CD31) cloning and relation to adhesion molecules of the immunoglobulin gene superfamily. *Science*. 1990;247(4947):1219-22.

109.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=5175> [cited 2016 12 May].

110.Newman PJ. The role of PECAM-1 in vascular cell biology. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1994;714:165-74.

111.Morris EJ, Maughan NJ, Forman D, Quirke P. Who to treat with adjuvant therapy in Dukes B/stage II colorectal cancer? The need for high quality pathology. *Gut*. 2007;56(10):1419-25.

112.Messenger DE, Driman DK, McLeod RS, Riddell RH, Kirsch R. Current practice patterns among pathologists in the assessment of venous invasion in colorectal cancer. *Journal of clinical pathology*. 2011;64(11):983-9.

113.Littleford SE, Baird A, Rotimi O, Verbeke CS, Scott N. Interobserver variation in the reporting of local peritoneal involvement and extramural venous invasion in colonic cancer. *Histopathology*. 2009;55(4):407-13.

114.Van Cutsem EJ, Oliveira J, Group EGW. Colon cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2008;19 Suppl 2:ii29-30.

115.Benson AB, 3rd, Schrag D, Somerfield MR, Cohen AM, Figueredo AT, Flynn PJ, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2004;22(16):3408-19.

116.Dotan E, Cohen SJ. Challenges in the management of stage II colon cancer. *Seminars in oncology*. 2011;38(4):511-20.

117.Araki I, Hosoda K, Yamashita K, Katada N, Sakuramoto S, Moriya H, et al. Prognostic impact of venous invasion in stage IB node-negative gastric cancer. *Gastric cancer : official journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association*. 2015;18(2):297-305.

118.Vass DG, Ainsworth R, Anderson JH, Murray D, Foulis AK. The value of an elastic tissue stain in detecting venous invasion in colorectal cancer. *Journal of clinical pathology*. 2004;57(7):769-72.

119.Inoue T, Mori M, Shimono R, Kuwano H, Sugimachi K. Vascular invasion of colorectal carcinoma readily visible with certain stains. *Diseases of the colon and rectum*. 1992;35(1):34-9.

120.Kingston EF, Goulding H, Bateman AC. Vascular invasion is underrecognized in colorectal cancer using conventional hematoxylin and eosin staining. *Diseases of the colon and rectum*. 2007;50(11):1867-72.

121.Howlett CJ, Tweedie EJ, Driman DK. Use of an elastic stain to show venous invasion in colorectal carcinoma: a simple technique for detection of an important prognostic factor. *Journal of clinical pathology*. 2009;62(11):1021-5.

122. Sejben I, Bori R, Cserni G. Venous invasion demonstrated by orcein staining of colorectal carcinoma specimens is associated with the development of distant metastasis. *Journal of clinical pathology*. 2010;63(7):575-8.

123. Krasna MJ, Flancbaum L, Cody RP, Shneibaum S, Ben Ari G. Vascular and neural invasion in colorectal carcinoma. Incidence and prognostic significance. *Cancer*. 1988;61(5):1018-23.

124. Abdulkader M, Abdulla K, Rakha E, Kaye P. Routine elastic staining assists detection of vascular invasion in colorectal cancer. *Histopathology*. 2006;49(5):487-92.

125. Dirschmid K, Lang A, Mathis G, Haid A, Hansen M. Incidence of extramural venous invasion in colorectal carcinoma: findings with a new technique. *Human pathology*. 1996;27(11):1227-30.

126. Baumhoer D, Thiesler T, Maurer CA, Huber A, Cathomas G. Impact of using elastic stains for detection of venous invasion in the prognosis of patients with lymph node negative colorectal cancer. *International journal of colorectal disease*. 2010;25(6):741-6.

127. Fleming ID CJ, Henson DE. *AJCC Cancer Staging Manual* (ed 5). Philadelphia, PA: Lippincott Raven; 1998.

128.Song YX, Gao P, Wang ZN, Liang JW, Sun Z, Wang MX, et al. Can the tumor deposits be counted as metastatic lymph nodes in the UICC TNM staging system for colorectal cancer? PloS one. 2012;7(3):e34087.

129.Lin Q, Wei Y, Ren L, Zhong Y, Qin C, Zheng P, et al. Tumor deposit is a poor prognostic indicator in patients who underwent simultaneous resection for synchronous colorectal liver metastases. OncoTargets and therapy. 2015;8:233-40.

130.Nagtegaal ID, Tot T, Jayne DG, McShane P, Nihlberg A, Marshall HC, et al. Lymph nodes, tumor deposits, and TNM: are we getting better? Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2011;29(18):2487-92.

131.Nagtegaal ID, Quirke P. Colorectal tumour deposits in the mesorectum and pericolon; a critical review. Histopathology. 2007;51(2):141-9.

132.Tateishi S, Arima S, Futami K, Kawahara K, Tachikawa D, Naritomi K, et al. A clinicopathological investigation of "tumor nodules" in colorectal cancer. Surgery today. 2005;35(5):377-84.

133.Booth RA. Minimally invasive biomarkers for detection and staging of colorectal cancer. Cancer letters. 2007;249(1):87-96.

134.Li P, Ling YH, Zhu CM, Hu WM, Zhang XK, Luo RZ, et al. Vascular invasion as an independent predictor of poor prognosis in nonmetastatic gastric cancer after curative resection. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(4):3910-8.

135.Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2015;65(1):5-29.

136.Campa D, Pastore M, Gentiluomo M, Talar-Wojnarowska R, Kupcinkas J, Malecka-Panas E, et al. Functional single nucleotide polymorphisms within the cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/2B region affect pancreatic cancer risk. *Oncotarget*. 2016.

137.Lovecek M, Skalicky P, Klos D, Neoral C, Ehrmann J, Jr., Zapletalova J, et al. [Surgical therapy of pancreatic cancer - 5 years survival]. *Rozhledy v chirurgii : mesicnik Ceskoslovenske chirurgicke spolecnosti*. 2015;94(11):470-6.

138.C.E. Brown SW. Visceral metastases from rectal carcinoma. *Surg Gynecol Obstet*. 1938;66:611-21.

139.Hwang C, Lee S, Kim A, Kim YG, Ahn SJ, Park DY. Venous Invasion in Colorectal Cancer - Impact of Morphologic Findings on Detection

Rate. Cancer research and treatment : official journal of Korean Cancer Association. 2016.

140.Stewart CH, S. Platell, C. Caldesmon is useful in demonstrating extramural venous invasion in colorectal carcinomas showing mucinous differentiation. Pathology. 2012;44(1):42–59.

141.Shepherd NA, Baxter KJ, Love SB. Influence of local peritoneal involvement on pelvic recurrence and prognosis in rectal cancer. Journal of clinical pathology. 1995;48(9):849-55.

142.Maughan NJ, Morris E, Forman D, Quirke P. The validity of the Royal College of Pathologists' colorectal cancer minimum dataset within a population. British journal of cancer. 2007;97(10):1393-8.

143.Van Wyk HC, Foulis AK, Roxburgh CS, Orange C, Horgan PG, McMillan DC. Comparison of Methods to Identify Lymphatic and Blood Vessel Invasion and their Prognostic Value in Patients with Primary Operable Colorectal Cancer. Anticancer research. 2015;35(12):6457-63.

144.Bonsib SM, Bhalodia A. Retrograde venous invasion in renal cell carcinoma: a complication of sinus vein and main renal vein invasion. Modern

pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2011;24(12):1578-85.

145. Belt EJ, van Stijn MF, Bril H, de Lange-de Klerk ES, Meijer GA, Meijer S, et al. Lymph node negative colorectal cancers with isolated tumor deposits should be classified and treated as stage III. *Annals of surgical oncology*. 2010;17(12):3203-11.

146. Ueno H, Hashiguchi Y, Shimazaki H, Shinto E, Kajiwara Y, Nakanishi K, et al. Peritumoral deposits as an adverse prognostic indicator of colorectal cancer. *American journal of surgery*. 2014;207(1):70-7.

8. ÖZET

GASTRİK, PANKREATİK VE KOLOREKTAL ADENOKARSİNOMLARDA DAMAR İNVAZYONU VE SERBEST TÜMÖR DEPOZİTLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE TRANSGELİN, SMOOTHHELİN, SMOOTH MUSCLE MYOSİN VE CD31 ANTİKORLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Venöz invazyon, tüm tümörlerde bağımsız bir prognostik faktör olup özellikle evre II hastalarda adjuvan kemoterapi kararını etkileyebilmektedir.

Bu çalışmada, CD31, SMM, transgelin ve smoothelin antikorlarının, gastrik, pankreatik ve kolorektal adenokarsinomlarda venöz invazyonun gösterilmesinde birbirlerine üstünlüklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2007- 2015 yılları arasında tanı alan 11 Whipple, 5 total gastrektomi, 3 segmental kolektomi ve 1 low anterior rektum rezeksiyon materyaline ait 79 blokta bulunan toplam 254 odak ele alınmıştır. Yirmi hastaya ait yaş, cinsiyet, tümör yerleşim yeri, tümör çapı, histolojik tipi ve derecesi, T, N, M değerleri incelenmiştir. Olası Vİ odaklarının anatomik lokalizasyonu, histolojik özellikleri gözden geçirilmiş ve bu odaklar 3 tipe ayrılmıştır: **A tipi** “orphan arteriol” paterni, **F tipi**, eşlik eden arter yapısı olmadan, organ çevresindeki yağ dokuda serbest tümör depozitleri, **X tipi**, uygulanan immünohistokimyasal yöntem sonrası ortaya çıkan odaklar.

Çalışmamızda 254 odağın %59,8'i A tipi, %29,1'i X tipi ve %11'i F tipidir. A tipi odakların %87,5'i, X tipi odakların %13,5'i ektramuraldir. F tipi odaklar tanımı gereği tümü ile ektramuraldir. İmmünohistokimyasal belirteçler öncelikle negatif (0) ve pozitif (1) olarak değerlendirilmiş, pozitif olanlar, damar yapısının çembersel çevresini pozitif boyama yeteneğinin niceliğine göre +1, +2 ve +3 olarak skorlanmıştır.

Çalışmamızın sonucunda, olası Vİ odaklarının hiçbirinde smoothelin ve CD31 ile ekspresyon saptanmamıştır. Tüm odaklar toplu halde ve A ve F odakları ayrı olarak incelendiğinde transgelinin SMM'ye göre daha üstün bir belirteç olduğu görülmüştür (sırasıyla $p < 0,001$, $p = 0,001$ ve $p = 0,10$). CD31 antikorunun tümörle invazyona uğramış damarlarda endotel hücrelerinin hasarlanmasına bağlı olarak ortadan kalktığından, smoothelin de damar düz kasında ekspresyon göstermediğinden Vİ araştırmasında kullanılmaları uygun görülmemiştir.

Tümör depozitlerinde (F tipi) odakların %35,8'i hiçbir belirteçle ekspresyon göstermemiş olup %64,2'si SMM ve transgelin ile pozitifdir. Negatif olan odakların adenokarsinom tarafından tamamen ortadan kaldırılan ven duvarı ya da lenf nodu yapısı olduğu düşünülmüştür. Pozitif olan odakların ise pozitif lenf nodu ya da venöz invazyon olduğu konusunda ayırım yapılamamıştır.

GİS ve pankreatik adenokarsinomlar değerlendirilirken literatürdeki veriler kullanıldığında dahi gözden kaçabilecek, ancak ek yöntemlerle gösterilebilen damar invazyonu odakları mevcuttur ve "X" olarak adlandırılmıştır.

Bu çalışma H&E'nin Vİ tanısında yetersiz olduğunu ve düz kas belirteçlerinin Vİ'yi saptamadaki başarısını göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Venöz invazyon, tümör depoziti, CD31, SMM, transgelin, smoothelin.



9. SUMMARY

COMPARISON OF THE EFFICIENCY OF TRANSGELIN, SMOOTHHELIN, SMOOTH MUSCLE MYOSIN AND CD31 ANTIBODIES FOR THE ASSESSMENT OF VASCULAR TUMOR INVASION AND FREE TUMOR DEPOSITS IN GASTRIC, PANCREATIC AND COLORECTAL ADENOCARCINOMAS

Venous invasion (VI) is an independent predictive factor in all tumors and may prompt consideration for adjuvant chemotherapy in patients with stage II tumors.

This study aimed to compare CD31, smoothelin, smooth muscle myosin (SMM) and transgelin for their efficiency in detecting VI and the nature of free tumor deposits (TD) in gastric, pancreatic and colorectal adenocarcinomas.

Seventy- nine slides from 11 Whipple, 5 gastrectomy, 3 colectomy and 1 low anterior resection specimens, diagnosed from 2007 to 2015 at the Pathology Department of Gazi University, were reviewed and examined which revealed 254 probable VI and/or TD foci. Age, gender, tumor site, tumor diameter, histologic type, TNM stage for these 20 patients were obtained. Additionally, anatomic site and histologic features of VI/TD foci were reviewed and divided into 3 types: **Type A**, the “orphan artery” pattern; **Type F**, free tumor deposits in the peri-organal adipose and connective tissue without an unaccompanied artery; and, **Type X**, a focus which could be detected only with the immunohistochemical procedures mentioned.

In our study, out of 254 foci, 59,8% were type A, 29,1% were type X and 11% were type F. Staining was scored as negative (0) or positive (1) initially. For a further stratification, each foci were scored according to each stain's efficacy in revealing the quantific circumferential positivity around a certain focus based on a scoring scheme of +1, +2 and +3; a three-tiered scoring system we devised.

No foci were positive by smoothelin and CD31. Transgelin was more sensitive than SMM in all foci types gathered, and A type and F type foci ($p < 0,001$, $p = 0,001$ and $p = 0,10$, respectively). As endothelial cells and CD31 antigen are possibly eliminated by the tumor in the affected vessels, relevant foci were negative by CD31. Smoothelin was negative in all foci. We deduced that these two markers were not recommendable for use in venous invasion researches.

In free tumor deposits (type F), 35,7% were negative by all four stains and 64,2% were positive by SMM and transgelin. Negative foci were considered vessel wall or lymph node, partially effaced by adenocarcinoma. We could not make the distinction between metastatic lymph node and venous invasion in positive foci.

In assessing GI tract and pancreatic tumors, there are venous invasion foci, tagged in our study as "X", which can be easily overlooked and missed. This focus can only be revealed with additional methods.

We conclude that H&E stain is inadequate and smooth muscle markers like transgelin and/or SMM are more efficient in revealing a venous invasion and probably lymph node / large extramural invasion.

Key words: Venous invasion, free tumor deposits, CD31, SMM, transgelin, smoothelin

