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

KOLOREKTAL ADENOKARSİNOMLARDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK IL-6 EKSPRESYON DÜZEYİNİN VE IL-6/STAT3/hMSH3 YOLAĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. ELİF KOLAY BAYRAM

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. AYŞE DURSUN

ANKARA
HAZİRAN 2021

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

KOLOREKTAL ADENOKARSİNOMLARDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK IL-6 EKSPRESYON DÜZEYİNİN VE IL-6/STAT3/hMSH3 YOLAĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. ELİF KOLAY BAYRAM

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. AYŞE DURSUN

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2019-58 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
HAZİRAN 2021

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Elif Kolay Bayram
Baba Adı	[redacted]
Doğum Yeri/Tarihi	[redacted]92
Diploma Tarihi / Diploma No	[redacted]10
Mezun Olduğu Fakülte	[redacted]esi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	**Yıl:** 3 **Ay:** 10
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI:
Kolorektal adenokarsinomlarda immünhistokimyasal olarak IL-6 ekspresyon düzeyinin ve IL-6/STAT3/hMSH3 yolağının değerlendirilmesi

JÜRİ KARARI: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Elif Kolay Bayram'ın "Kolorektal adenokarsinomlarda immünhistokimyasal olarak IL-6 ekspresyon düzeyinin ve IL-6/STAT3/hMSH3 yolağının değerlendirilmesi" konulu tezi, bölümümüz araştırma görevlilerinden Dr. Elif Kolay Bayram tarafından sunulmuştur. Uzmanlık sınavına girmesi uygundur. Gereğini bilgilerinize saygılarımızla arz ederiz.

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN
Prof. Dr. Özlem Erdem

Prof. Dr. Özlem ERDEM
T.C. G.Ü.T.F. Gazi Hastanesi
Tıbbi Patoloji ABD
Dip. No: 11333

ÜYE
Prof. Dr. Ayşe Dursun

Prof. Dr. Ayşe DURSUN
T.C. Gazi Üniversitesi
Gazi Hastanesi
Tıbbi Patoloji A.D.
Diploma No: 6805

ÜYE
Prof. Dr. Fazilet Kayeselçuk

Başkent Üniversitesi Hastanesi
Prof.Dr Fazilet KAYASELÇUK
Dip.Tescil No:42711
Patoloji Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER i

TEŞEKKÜR iii

KISALTMALAR iv

TABLOLAR DİZİNİ vi

ŞEKİLLER DİZİNİ vii

GRAFİKLER DİZİNİ viii

RESİMLER DİZİNİ ix

1.GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 4

2.1. Kolorektal adenokarsinom 4

2.2. Kolorektal adenokarsinom patogenezi 4

2.3. İnflamatuar bağırsak hastalıklarında displazi ve kanser 6

2.4. Kolorektal adenokarsinomların patolojik incelenmesi ve raporlanması 9

2.5. Kolorektal adenokarsinom histolojik subtipleri 10

2.6. Kolorektal adenokarsinomlarda tümör derecelendirmesi 10

2.7. Kolorektal adenokarsinomlarda TNM evrelemesi 11

2.8. Kolorektal adenokarsinomlarda immun yanıt ve tümörü infiltre eden lenfosit değerlendirilmesi 13

2.9. IL-6 14

2.10. IL-6 sinyal mekanizmaları 15

2.11. STAT-3 16

2.12. hMSH3 ve EMAST 17

3.GEREÇ VE YÖNTEM 20

3.1 Olguların seçilmesi 20

3.2. Morfolojik parametreler 21

3.3. Olguların hazırlanması.....21

3.4. İmmünhistokimyasal boyama 22

3.4.1. IL-6 boyama yöntemi.....22

3.4.2. STAT3 boyama yöntemi.....23

3.4.3. MSH3 boyama yöntemi 23

3.5. İmmünhistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi 24

3.6. İstatistiksel yöntem 32

4.BULGULAR.....33

4.1. Demografik ve klinik özelliker 33

4.3. İmmünhistokimyasal boyama değerlendirmesi.....40

5.TARTIŞMA 45

6. SONUÇLAR 54

7. KAYNAKLAR.....56

8. ÖZET 61

9.SUMMARY 63

10. ÖZGEÇMİŞ.....65

TEŞEKKÜR

Tüm eğitim sürecimde büyük emekleri olan Prof. Dr. Ayşe DURSUN'a hayatın her alanındaki rehberliği için sonsuz teşekkür ederim.

Başta bölüm başkanı Prof. Dr. Özlem ERDEM olmak üzere, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, birlikte çalışmış olmaktan onur duyduğum hocalarım Prof. Dr. Leyla MEMİŞ, Prof. Dr. Gülen AKYOL, Prof. Dr. Aylar POYRAZ, Prof. Dr. Nalan AKYÜREK, Prof. Dr. İpek IŞIK GÖNÜL, Doç. Dr. Güldal ESENDAĞLI, Doç. Dr Pınar UYAR GÖÇÜN ve Doç. Dr. Özgür EKİNCİ'ye en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Her soruda ve sorunda kapılarını çaldığım Öğr. Gör. Dr. Betül ÖĞÜT ve Öğr. Gör. Dr. Arda İNAN'a koşulsuz destekleri için ayrıca minnettarım. Asistanlık süresince destekleri, sonrasında tez sürecindeki katkıları ve umarım ki ömrüm boyunca sürecek dostlukları için Dr. Elif Acar ve Dr. Aysu Sadioğlu başta olmak üzere asistan arkadaşlarıma çok teşekkür ederim. Tezimin teknik kısmını yürüten ve bizlere yardımcı olan tüm bölüm personelimize teşekkür ederim.

Son olarak günlerin yoğunluğunda, zamanın kısıtlılığında bazen arka planda kalan ama hayatta yaptığım her şeyi anlamlı kılan, beni ben yapan canım anne babama, biricik abime ve sevgili eşim Ozan'a çok teşekkür ederim.

Dr. Elif Kolay Bayram

Ankara, 2021

KISALTMALAR

APC	Adenomatöz polipozis coli
BRAF	v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B
CIMP	“CpG” ada hipermetilasyonu
CIN	Chromosomal instability
CMS	Consortium molecular subtype
DCC	Deleted in colorectal carcinoma
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EMAST	Elevated microsatellite alteration at selected tetranucleotide repeats
FAP	Familyal adenomatöz polipozis
IL	İnterlökin
ITWG	International TILs Working Group
İBH	İnflamatuar bağırsak hastalığı
KRAS	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
KRK	Kolorektal karsinom
MLH1	MutL homolog 1
MSH2/3/6	MutS homolog 2/3/6
MSI	Mikrosatellit İnstabilitesi
MSS	Mikrosatellit Stabil
NF-κB	Nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells

PIK3CA	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha
PMS2	Post-meiotic segregation 2
POLE	DNA Polymerase Epsilon
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
RAF	Rapidly accelerated fibrosarcoma
STAT	Signal transducer and activator of transcription proteins
TGFβ	Transforming growth factor β
TIL	Tumörü infiltre eden lenfosit
TNF	Tumor necrosis factor
TNM	Tümör-nod-metastaz
VEGF	Vascular endothelial growth factor
Wnt	Wingless-related integration site

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. DSÖ Raporlama önerileri.....9

Tablo 2.2. DSÖ bölgesel lenf nodlarının sınıflandırılması.....11

Tablo 2.3. TNM Sınıflaması 12

Tablo 2.4. TNM'ye göre evreleme 13

Tablo 4.1. Hastaların Takip Zaman Süreleri Ve Prognoz Özellikleri Dağılımı....33

Tablo 4.2. Tümörün Yerleşim Yeri İle Diğer Değişkenlerin İlişkisi 35

Tablo 4.3. Sağ kalım ile diğer değişkenlerin ilişkisi 36

Tablo 4.4. Hastaların TIL grubu dağılımları.....38

Tablo 4.5. Tümör lokalizasyonu ile TIL değer dağılımı ilişkisi 38

Tablo 4.6. Tümör lokalizasyonu ile TIL ilişki durumu 38

Tablo 4.7. Hastaların TIL grubu ile ortalama sağ kalım süresi dağılımı.....39

Tablo 4.8.IL-6 yaygınlık frekans ve yüzdeleri.....40

Tablo 4.9. TIL ve immünhistokimyasal belirteçlerin boyanma yaygınlığı ilişkisi 44

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Fearon ve Vogelstein'in çok basamaklı karsinogez teorileri 5

Şekil 2.2. "Serrated" yolakta *BRAF* mutasyonu, WNT sinyal yolağının aktivasyonu 6

Şekil 2.3. İnflamasyonun displazi ve kanser gelişimindeki basamaklara etkisi 7

Şekil 2.4. CMS subtipleri ve moleküler özellikleri 9

Şekil 2.5.IL-6/JAK/STAT3 yolağı.....16

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 4.1. pT grubu ve sağ kalım ilişkisi 37

Grafik 4.2.İmmünhistokimyasal belirteçlerin AUC analizi ve ROC eğrileri 42

Grafik 4.3. Histoskora göre frekans tablosu 43

Grafik 5.1 pN grubu ve sağ kalım ilişkisi.....46

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1. Tümör invaziv sınırları içerisinde yoğun olarak izlenen mononükleer inflamatuar hücreler (x10).....21

Resim 3.2. IL-6 ile %100 yaygınlıkta 3+ boyanma (x20) 25

Resim 3.3. IL-6 ile internal kontrol olan inflamatuar hücrelerde boyanma (x20) 26

Resim 3.4. STAT3 ile tümörde normal kolona göre daha yoğun boyanma (x1,25) 27

Resim 3.5. STAT3 ile %100 yaygınlıkta 2+ boyanma (x20).....28

Resim 3.6. STAT3 (-) tümör hücreleri (x20) 28

Resim 3.7. Müsinöz karsinom, hematoksilen&eozin boyası (x4).....29

Resim 3.8. Müsinöz karsinom olgusunda %100 yaygınlıkta 3+ nükleer boyanma (x10) 29

Resim 3.9. MSH3 %100 yaygınlıkta 3+ nükleer ekspresyonu (x20) 30

Resim 3.10. MSH3 ile tümör hücrelerinde azalmış ve heterojen nükleer ekspresyon (x20).....30

Resim 3.11.Tümör hücrelerinde MSH3 ekspresyon kaybı (x40).....31

Resim 3.12. Tümör hücrelerinde MSH3 ekspresyon kaybı (x60).....31

Resim 4.1. Peritümöral Crohn hastalığı benzeri lenfoid agregatlar (x1,25) 39

1.GİRİŞ

Kolorektal kanser(KRK) en yaygın gastrointestinal kanser türüdür ve yaşam tarzındaki değişiklikler nedeniyle dünya çapında görülme sıklığı artmaktadır. Küresel Kanser İstatistikleri (Global Cancer Statisitcs-GLOBOCAN 2018) 'ne göre kolorektal kanser dünya genelinde kadınlarda ikinci en sık, erkeklerde ise üçüncü en sık kanserdir(1). Ülkemizde ise her iki cinsiyette tüm yaş grupları birlikte düşünüldüğünde üçüncü sırada yer almaktadır(2).

Etiyolojik olarak incelendiğinde KRK insidansı sıklıkla sedanter hayat tarzı ve yüksek gelirin tipik diyet alışkanlığına sahip olan ülkelerde yüksektir. İşlenmiş ve kırmızı et tüketimi, artmış alkol alımı ve artmış vücut yağı ortaya konmuş risk faktörlerindendir (3).

Çoğu KRK'da patogenez normal mukozal kök hücrelerin genetik ve epigenetik değişikliklerle adenom ve karsinoma dönüşmesine yol açan adenom-karsinom sekansı ile açıklanmaktadır. Adenom-karsinom sekansında ortaya konan en sık ve karakteristik genetik mutasyonlar *APC, KRAS, TP53, PIK3CA*, yanlış eşleşme tamir genlerinde ve *POLE* geninde meydana gelmektedir(3).

KRK'ların yalnızca küçük bir kısmı kalıtsal nedenlerle (örneğin familyal adenomatöz polipozis) gelişirken büyük kısmı kalıtsal olmayan ve çevresel faktörlere bağlıdır. Bu nedenler arasında kronik inflamasyon etiyolojide nadir ancak önemli bir yere sahiptir. KRK'ların yalnız %1-2'sinin inflamatuar bağırsak hastalıklarına (İBH) bağlı olduğu bilinmektedir(4). Klinik olarak İBH tanısı olmayan, semptom göstermeyen hastalarda da karsinom patogenezinde inflamasyonun rol oynadığı düşünülmektedir(5). İnflamasyon ve kanser ilişkisinin araştırılması 150 yıllık bir geçmişe, Rudolf Virchow'un hipotezine dayanmaktadır(6). 1863 yılında Virchow tümör içerisindeki lökositleri fark etmiş ve kronik inflamasyon alanlarında gelişen kanserlerde orjinin "lenforetiküler

infiltrat" olduğunu önermiştir(7). Geçen yıllarda kanser ve inflamasyon ilişkisi daha net ortaya konmuş, tümör mikroçevresi, kanser gelişimi ve tedavi seçenekleri açısından pek çok kanser türünde araştırılırmıştır.

Kolorektal kanserin moleküler özellikleri ve patogenezi Dünya Sağlık Örgütü(DSÖ) Sindirim Sistemi Tümörleri Sınıflaması'nın 2019 baskısında daha dikkatle ele alınmış ve "İBH'ya bağlı karsinogenez" ayrı bir başlık altında incelenmiştir.

İnflamatuar, mezenkimal ve tümöral hücrelerin salgıladıkları inflamatuar sitokinler tümör başlangıcını, proliferasyonunu ve invazyonunu tetiklemektedir. Proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokinlerin tümör gelişimindeki etkisi potansiyel tedavi seçeneklerini oluşturmaları açısından da önemlidir. Tümör nekroz faktörü (TNF), IL-10, IL-17, IL-21 ve bu sitokinlerin diğer aile üyeleri araştırılırken IL-6 hemen tüm kanserlerin gelişiminin incelenmesinde bir odak noktası olmaktadır. IL-6 ekspresyonunun ileri evre ve diferansiyasyon kaybı ile ilişkisinin ortaya koyan literatür verileri mevcuttur(8).

IL-6 düzeylerinin ve IL-6 ile aktive olan yolakların belirlenmesi ve hastalarda gösterilmesinin prognoz tayininde ve gelecekte tedavi seçenekleri arasında yer alabilecek anti IL-6 terapiler için uygun hastaların seçiminde önemli olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada sporadik KRK olgularında IL-6'nın immünhistokimyasal olarak değerlendirilmesi, bu sitokinin klinik ve histopatolojik parametrelerle ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Amaçlardan bir diğeri IL-6'nın karsinogenezde STAT3 aracılığıyla MSH3 fonksiyonunu değiştirdiğini immünhistokimyasal olarak ortaya koymaktır. IL-6 aracılığıyla gerçekleşen karsinogenezde görev alan transkripsiyon faktörü STAT3 ve DNA yanlış eşleşme onarımından sorumlu MSH3 ekspresyonları ile klinikopatolojik özelliklerin

ilişkisi değerlendirilmek istenmiştir. Bu belirteçlerin ileride prognoz ve tedavi seçenekleri arasında yer alıp alamayacağı değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Kolorektal adenokarsinom

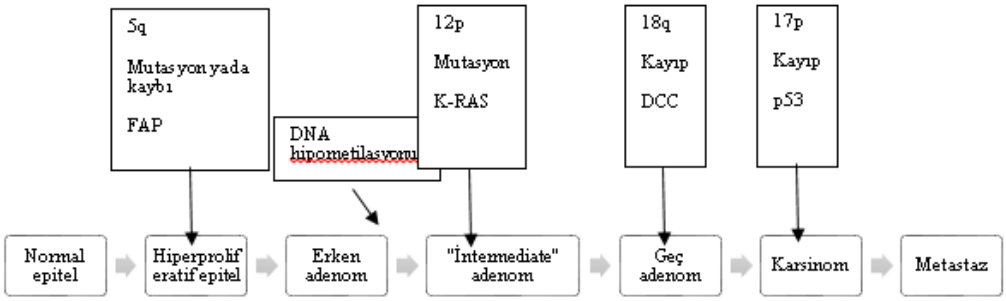
Kolorektal adenokarsinom glandüler ya da müsinöz diferansiyasyon gösteren kalın bağırsaktan kaynaklanan malign epitelyal tümördür. Yerleşimlerine göre sağ kolon/ proksimal, sol kolon ve rektal olarak üçe ayrılmaktadır. Çoğu kolorektal kanser sol kolon ya da rektum kaynaklıdır. Pek çok KRK "adenokarsinom, başka türlü sınıflandırılamayan" olarak tanı alsa da çeşitli histolojik subtipleri vardır(9).

2.2.Kolorektal adenokarsinom patogenezi

Geçtiğimiz yıllarda kolorektal adenokarsinom patogenezi tek bir adenom-karsinom sekansı ile açıklanmak yerine KRK'lar benzer morfolojik, moleküler ve klinik özelliklerine göre sınıflandırılmakta ve patogenezde moleküler heterojenite ön plana çıkmaktadır(10). Ayrıca konvansiyonel adenom-karsinom sekansına ek "serrated" yolak adı verilen çok basamaklı alternatif bir mekanizma tanımlanmaktadır(11).

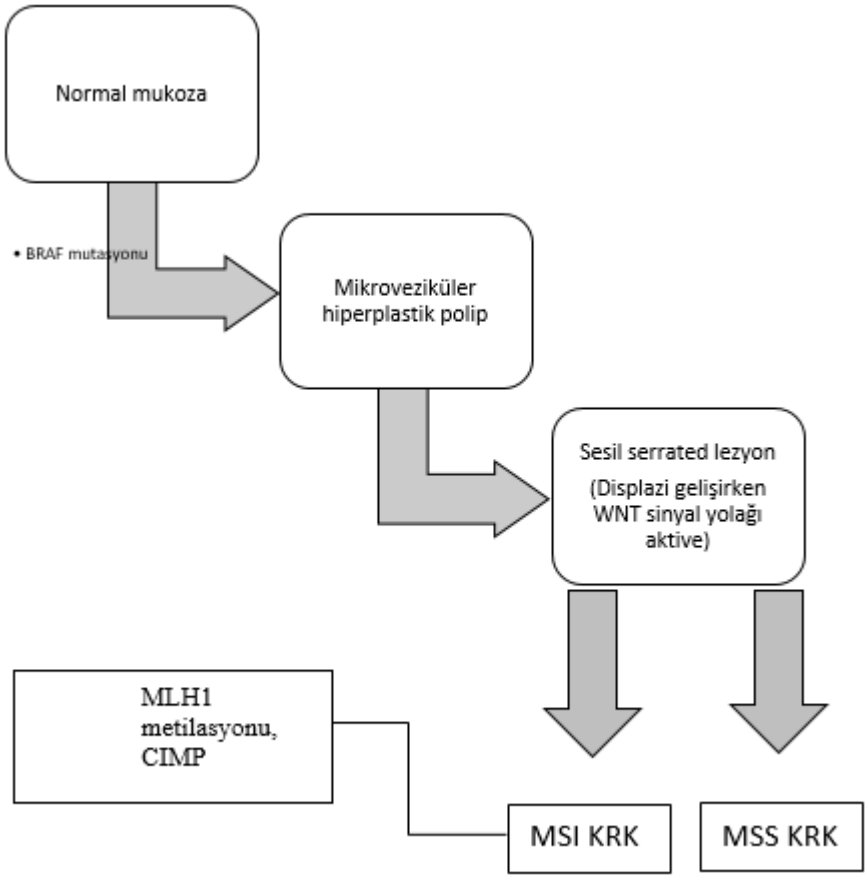
1990 yılında Fearon ve Vogelstein, çok basamaklı karsinogenez olarak tanımladıkları teorileri ile normal kolon ve rektum mukozasının adenomlar aracılığıyla malign transformasyonunu açıklamaktadır. Karsinogenez, onkogenlerin aktive ve tümör süpresör genlerin inaktive olmasına neden olan mutasyonların sonucunda gelişmektedir. Teoriye göre karsinom gelişimi için en

az dört ya da beş gende mutasyon gerçekleşmesi gerektiği savunulmaktadır. Mutasyonlar belli bir sırayı takip etse de gerçekleşme sıralarından çok birikimleri tümör biyolojisini belirleyici olmaktadır(12). Çok basamaklı karsinogenez şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Fearon ve Vogelstein'in çok basamaklı karsinogez teorileri

"Serrated" yolak *RAS, RAF* mutasyonları, Wnt sinyal yolağında aksamalar ve CpG adalarının metilasyonları ile tanınmaktadır. Mitojen-aktive edici protein kinaz yolağını kontrol eden genlerde *(KRAS*, daha sık *BRAF*) aktive edici mutasyon gelişmektedir. *BRAF* mutasyonu CpG adalarının metilasyonuna ve pek çok tümör süpresör genin inaktive olmasına neden olmaktadır (CpG island methlyator phenotype-CIMP).*MLH-1* promoter bölgesinin hipermetilasyonu displazi içeren sesil serrated lezyonlardaki mikrosatellit instabiliteden (MSI) sorumludur. Serrated lezyonların progresyonunda Wnt sinyal yolağının normal regülasyonu bozulmuştur (Şekil 2)(13).

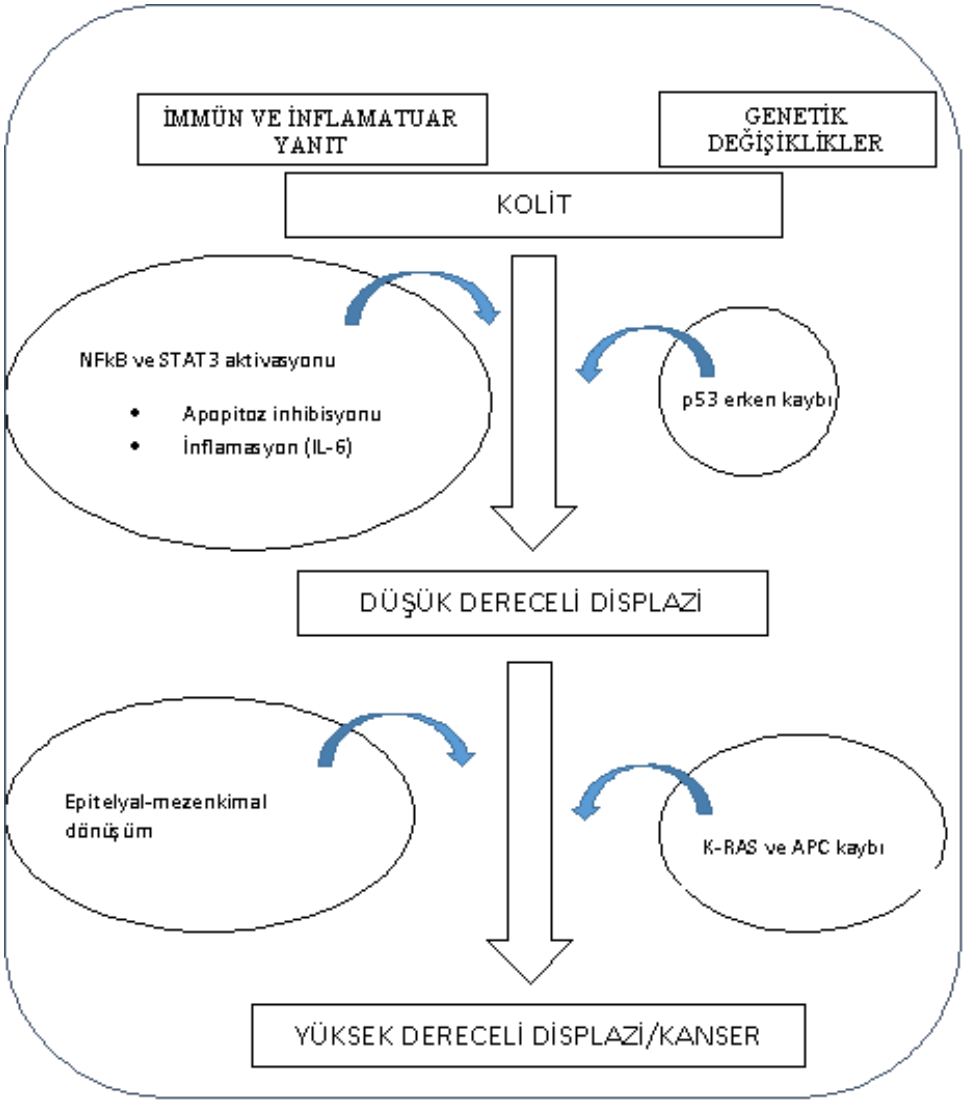


Şekil 2.2."Serrated" yolakta *BRAF*mutasyonu, WNT sinyal yolağının aktivasyonu

2.3. İnflamatuar bağırsak hastalıklarında displazi ve kanser

Ülseratif kolit ve Crohn hastaları KRK gelişimi açısından artmış risk taşımaktadır. Kronik inflamasyonun karsinogeneze yol açtığı düşünülmekte ve karsinom gelişme riski zaman, kolitin anatomik yaygınlığı ve eşlik eden primer sklerozan kolanjit gibi diğer inflamatuar durumlarla ilişkili bulunmaktadır. Sporadik olgularda olduğu gibi karsinogeneze yol açan durumların kromozomal ve mikrosatellit instabilite ve DNA hipermetilasyonu olduğu düşünülmektedir. Ancak IBH ilişkili karsinogenezde bu genetik değişikliklerin zamanlaması ve

sıklığı farklı olabilmektedir. Normal kolon mukozasının aksine inflame mukoza histolojik olarak displazi/kanser gelişiminden çok daha önce bu genetik değişiklikleri içermektedir. İnflamatuar hücreler tarafından oluşturulan reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin karsinogenezi önleyen genlerin düzenlenmesinde değişikliğe yol açtığı bildirilmektedir(14). İnflamatuar bağırsak hastalıklarında displazi ve kanser gelişimindeki önemli değişikliklere Şekil 3'te yer verilmiştir.

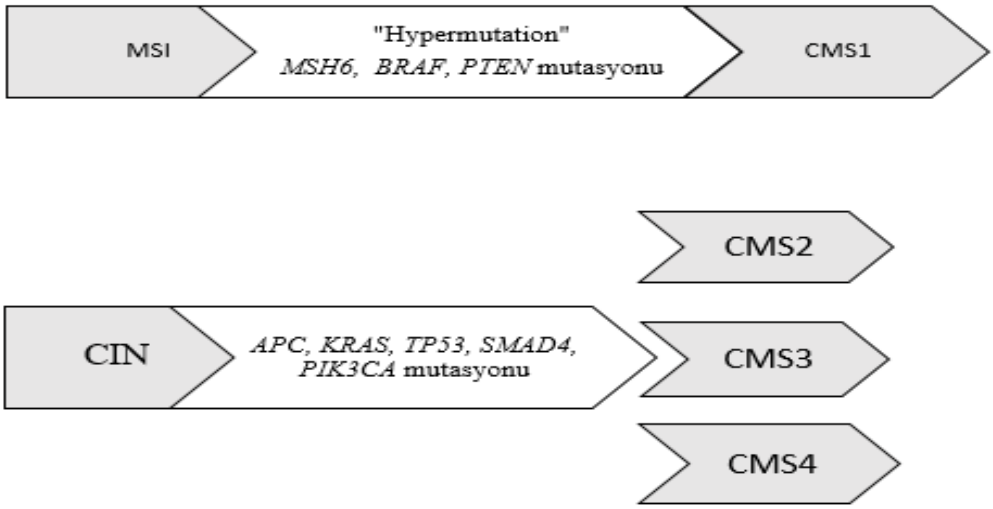


Şekil 2.3.İnflamasyonun displazi ve kanser gelişimindeki basamaklara etkisi

KRK'ler 2015 yılında altı ayrı bağımsız çalışmanın entegrasyonu ile"consensus molecular subtype (CMS)" başlığı ile dört ayrı subtipe ayrılmıştır. Bunlar;CMS1 (MSI immün), CMS2 (canonical), CMS3 (metabolik) ve CMS4 (mezenkimal) subtipleridir.

İleri evre olgularda MSI durumunun immün kontrol noktası inhibitörlerinin kullanımı ve diğer subtipler için mekanizmaların daha iyi tanımlanmasıyla hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi gündemdedir(15). Serrated yolaktan *BRAF* mutasyonu ile gelişen tümörler CMS1 moleküler subtipine uymaktadır(13).

CMS1 belirgin immün aktivasyon ve mikrosatellit instabilite gösteren gruptur ve tüm subtiplerin %14'ünü oluşturmaktadır. Tüm subtiplerin %37'sini oluşturan CMS2 subtipi ise MYC ve WNT yolaklarında belirgin aktivasyon içermektedir. CMS3 çok çeşitli sinyal yolaklarında metabolik bozukluk ile tanımlanmaktadır. CMS4 subtipinde TGF-beta aktivasyonu ve kompleman ilişkili inflamasyon, matriks yeniden şekillenmesi, stromal invazyon ve anjiogenez ilişkili genlerin ekspresyonunun arttığı bilinmektedir. Diğer gruplar ile kıyaslandığında en kötü sağkalım süresine sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, mikst özellikler gösteren örnekler gruplar arası geçiş fenotipi ya da intratümöral heterojeniteye dayandırılabilmektedir(16). CMS subtipleri ve moleküler özellikleri şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4.CMS subtipleri ve moleküler özellikleri

2.4.Kolorektal adenokarsinomların patolojik incelenmesi ve raporlanması

Raporlamada gerekli ve DSÖ Gastrointestinal Sistem Tümörleri Sınıflaması'nda önerilen parametrelere Tablo 1A'da yer verilmiştir.

Tablo 2.1.DSÖ Raporlama önerileri

Histolojik subtip
Tümör derecesi (yüksek ya da düşük dereceli)
İnvazyon derinliği
Lenfovasküler invazyon (intramural ya da ekstamural vasküler invazyon ya da lenfatik invazyon)
Perinöral invazyon
Cerrahi sınırlar
Tümör çapı
Tümör lokalizasyonu
Rezeksiyon materyalinin özellikleri
Diseke edilen lenf nodu sayısı
Metastatik lenf nodu sayısı
Tedaviye yanıt
Mikrosatellit stabilitesi (mikrosatellit stabil/instabil), yanlış eşleşme tamir proteinlerinde ekspresyon kaybı var/yok
Tümör tomurcuklanması
İmmun yanıt
İlişkili mutasyonların durumu

2.5.Kolorektal adenokarsinom histolojik subtipleri

Başlıca kolorektal adenokarsinom histolojik subtipleri şunlardır:

- Müsinöz adenokarsinom
- Taşlı yüzük hücreli karsinom
- Medüller karsinom
- Serrated adenokarsinom
- Mikropapiller adenokarsinom
- Adenom benzeri adenokarsinom
- Adenoskuamöz adenokarsinom
- Sarkomatoid komponent içeren adenokarsinom
- Andiferansiye adenokarsinom

Bu histolojik subtiplerden en sık görüleni müsinöz adenokarsinomdur. Müsinöz adenokarsinom tümörün %50'sinden fazlasını oluşturan müsinöz komponent ile karakterlidir ve kendine özgü moleküler ve klinik özellikleri mevcuttur(17).

2.6.Kolorektal adenokarsinomlarda tümör derecelendirmesi

Kolorektal adenokarsinomlarda derecelendirme gland formasyonuna göre yapılmaktadır. Güncel DSÖ Sınıflaması'nda iki katmanlı derecelendirme sistemi kullanılmakta olup iyi ve orta derece diferansiye olarak bilinen tümörler "düşük dereceli" az diferansiye tümörler "yüksek dereceli" olarak sınıflandırılmaktadır. Derecelendirmede en az diferansiye komponent göz önüne alınmaktadır(18). Müsinöz adenokarsinomların histopatolojik derecelendirilmesi daha önceki sınıflamalarda önerilmezken güncel sınıflama konvansiyonel adenokarsinomlar

için uygulanan histolojik kriterleri müsinöz karsinomlar için de uygulamayı önermektedir. Yine de müsinöz komponenti olan tümörlerde derecelendirme ve prognoz tayini tartışmalıdır(19).

2.7.Kolorektal adenokarsinomlarda TNM evrelemesi

Malign tümörlerin TNM Sınıflaması 2017 yılı baskısına göre kolon ve rektum tümörleri için TNM sınıflaması Tablo 1B, Tablo 1C ve Tablo 1D'de yer alan verilere göre yapılmaktadır.

Tablo 2.2.DSÖ bölgesel lenf nodlarının sınıflandırılması

Anatomik bölgeler	**Anatomik bölgelere göre(bölgesel) lenf nodları** (Bu lenf nodları dışında kalan lenf nodlarına metastaz uzak metastaz kabul edilmektedir)
Çekum	İleokolik, sağ kolon
Çıkan kolon	İleokolik, sağ kolon, orta kolon
Hepatik fleksura	Sağ kolon, orta kolon
Transvers kolon	Sağ kolon, orta kolon, sol kolon, inferior mezenterik
Splenik fleksura	Orta kolon, sol kolon,inferior mezenterik
İnen kolon	Sol kolon, inferior mezenterik
Sigmoid kolon	Sigmoid, sol kolon, süperior rektal, inferior mezenterik ve rektosigmoid
Rektum	Superior, orta, inferior rektal, inferior mezenterik, internal iliak, mezorektal, lateral sakral, presakral, sakral promontor (Gerota)

Tablo 2.3.TNM Sınıflaması

T-Primer Tümör	**N-Bölgesel lenf nodları**	**M-Uzak metastaz**
TX: Primer tümör değerlendirileme-mektedir. **T0:** Primer tümör mevcut değildir. **Tis:** Karsinoma in situ:Lamina propria invazyonu **T1:** Submukoza invazyonu **T2:** Muskularis propria invazyonu **T3:**Subserozal/ periton içermeyen perikolik/ perirektal yağ doku invazyonu **T4:** Direkt olarak komşu organ invazyonu ve/veya viseral peritonun perforasyonu **T4a:**Viseral periton perforasyonu **T4b:**Komşu organ ya da yapıların invazyonu	**NX:** Bölgesel lenf nodları değerlendirilememektedir. **N0:** Bölgesel lenf nodu metastazı mevcut değildir. **N1:**1-3 lenf nodu metastazı **N1a:**1 lenf nodu metastazı **N1b:**2-3 lenf nodu metastazı **N1c:** Lenf nodu metastazı olmaksızın tümör depoziti varlığı **N2:** 4 veya daha fazla lenf nodu metastazı **N2a:** 4-6 lenf nodu metastazı **N2b:** 7 veya daha fazla lenf nodu metastazı	**M0:**Uzak metastaz mevcut değildir. **M1:**Uzak metastaz **M1a:**Peritoneal metastaz olmaksızın tek organa sınırlı metastaz **M1b:**Birden fazla organa metastaz **M1c:**Organ metastaz durumundan bağımsız peritoneal metastaz olması

Tablo 2.4.TNM'ye göre evreleme

Evre 0	Tis	N0	M0
Evre 1	T1, T2	N0	M0
Evre 2	T3, T4	N0	M0
Evre 2A	T3	N0	M0
Evre 2B	T4	N0	M0
Evre 3	Herhangi bir T evresi	N1, N2	M0
Evre 3A	T1, T2 T1	N1 N2a	M0 M0
Evre 3B	T1, T2 T2, T3 T3, T4a	N2b N2a N1	M0 M0 M0
Evre 3C	T3, T4a T4a T4b	N2b N2a N1, N2	M0 M0 M0
Evre 4	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

2.8.Kolorektal adenokarsinomlarda immun yanıt ve tümörü infiltre eden lenfosit değerlendirilmesi

Geçtiğimiz on yılda pek çok solid tümörde tümör mikroçevresinin değerlendirilmesi immün aktivasyonunun göstergesi ve bağımsız prognostik faktör olması nedeniyle büyük önem kazanmıştır. 2014 yılında Uluslararası Tümör İçi Lenfosit Çalışma Grubu (ITWG) meme kanserinde hematoksilen-eozin kesitlerde tümörü infiltre eden lenfosit (TIL)oranının belirlenmesi için standardize bir yaklaşım geliştirmiştir. 2020 yılında Fuchs ve arkadaşları kolorektal adenokarsinomlarda TIL değerlendirilmesinde ITWG'nin önerilerini kolorektal adenokarsinomlar için uyarlanmıştır.

Buna göre kolorektal adenokarsinomlarda TIL değerlendirilirken;

1. TIL sadece stromal komponentte değerlendirilmeli ve stromal alana göre yüzdelendirilmelidir (örneğin %60 oranı stromal alanın %60'nın mononükleer infiltrat tarafından doldurulduğunu belirtmektedir).
2. Değerlendirme invaziv tümörün sınırlarında yapılmalıdır. Tümör alanı dışındaki TIL değerlendirme dışı tutulmalıdır.
3. Nekroz, abse formasyonu ya da fibrozis içerisindeki TIL değerlendirme dışı tutulmalıdır.
4. Tek bir kesit tüm tümörü temsil etmesi açısından yeterli sayılmalıdır.
5. Tüm kesit için genel bir ortalama verilmeli, oranın en yüksek olduğu "hotspot" alanların skoru genele yansıtılmamalıdır.
6. Tüm mononükleer inflamatuar hücreler (lenfositler, plazma hücreleri) değerlendirmeye dahil edilmeli; granülosit ya da nötrofiller gibi diğer inflamatuar hücreler değerlendirme dışı bırakılmalıdır.
7. Displastik değişiklikler gösteren ve in situ alanlar değerlendirme dışı bırakılmalı sadece invaziv tümör alanı dikkate alınmalıdır(20).

2.9.IL-6

IL-6 kanser ve otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynayan pleiotropik, proinflamatuar bir sitokindir. 21-28 kDA ağırlığında, 184 amino asitten ve 4 sarmal demetinden oluşan bir glikoproteindir. Patolojik süreçlerin haricinde anjiogenez, kemik yeniden şekillenmesi, immünite, nöral gelişim ve

hematopoez gibi biyolojik süreçlerde rol alan IL-6 makrofajlar, monositler, kas hücreleri, epitelyal hücreler, stromal hücreler ve hematopoetik hücreler gibi pek çok hücreden salınmaktadır. Tümör mikroçevresinde IL-6 salımında rol alan başlıca hücreler tümörü infiltre eden immün hücreler, fibroblast stromal hücreler ve tümör hücrelerinin kendisidir. IL-6 işlevini membrana bağlı reseptörü (konvansiyonel/klasik-mIL6R) ya da çözünür reseptörü(soluble, sIL-6R)aracılığıyla gerçekleştirmektedir(21, 22).

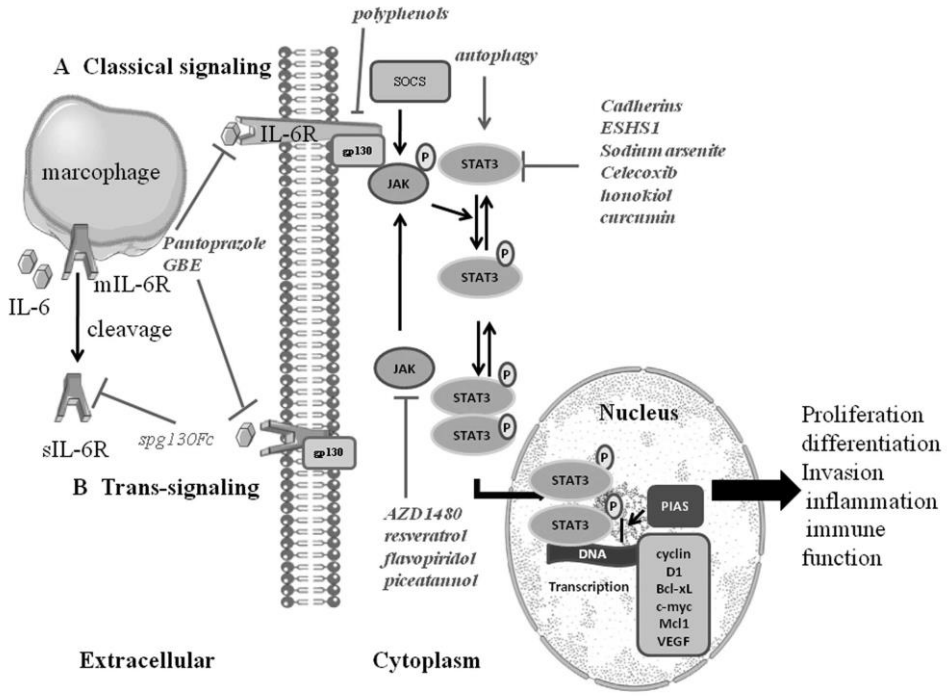
2.10.IL-6 sinyal mekanizmaları

IL-6'nın bağlandığı reseptöre göre işlevi ve işlev mekanizması değişmektedir. Klasik sinyal yolağı (mIL6R) lökositlerde ve hepatositlerde bulunur ve anti-inflamatuar yanıttan sorumludur. Trans sinyal yolağı (çözünür reseptör aracılı yolak) pro-inflamatuar ilişkili yolaktır ve çözünür reseptör pek çok hücrede bulunabilmektedir. sIL-6R aracılı yolak aktive olduktan sonra Janus kinaz (JAK) aktive olmaktadır ve olası 3 yolağın aktivasyonu gerçekleşmektedir.

1. Sinyal iletimi ve aktivasyonu-3 (Signal transducers and activation-3/STAT-3)'ün dimerizasyonu ve aktivasyonu
2. Ras/Raf yolağının, mitojen aktive protein kinaz (MAPK) yolağının aktivasyonu ve serin/threonine kinaz aktivitesinde artış
3. Fosfoinozitol-3 kinaz (PI3k)-protein kinaz B (PKB)/Akt yolağının aktivasyonu (22).

2.11.STAT-3

STAT-3'ün kanser hücrelerinin proliferasyonunda, diferansiyasyonunda ve invazyonunda etkili onkojenik bir transkripsiyon faktörü olduğu düşünülmektedir. Kırkı aşkın sitokin STAT sinyal yolağını aktive edebilmektedir. STAT3 normalde sitoplazmada yerleşiktir. JAK, epidermal büyüme faktörü reseptörü ve IL-6R aktivasyonu ile fosforile olmakta ve STAT ailesinin diğer üyeleri ile birlikte dimerlerini oluştumaktadır. Bu aktivasyonla birlikte sitoplazmadan nükleusa yer değiştirmesi gerçekleşmektedir ve hedef genlerinin transkripsiyonu başlatılmaktadır. Bu hedef genler arasında siklin D1, Bcl-XL, c-myc, Mcl1 ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) yer almaktadır(Şekil 5)(23).



Şekil 2.5.IL-6/JAK/STAT3 yolağı

2.12.hMSH3 ve EMAST

Mikrosatellitler 1-6 baz çifti içeren, ökaryotik genomda pek çok kez tekrarlayan birimlerdir. Bu tekrarlar DNA replikasyonu sırasında hataya açık olarak tanımlanmaktadır. Bu hataların düzeltilememesi mikrosatellit instabilite ile sonuçlanmaktadır(24). Mikrosatellit instabilite mono ve dinükleotid DNA mikrosatellit tekrarlarında meydana gelen çerçeve kaymaları olarak tanımlanmaktadır. hMLH1 ve hMSH2 en çok bilinen DNA yanlış eşleşim onarım (missmatch repair) proteinleridir. Diğer proteinler hMSH2-hMSH6, hMSH2-hMSH3, hMLH1-hPMS2 olarak bilinmektedir. hMLH1 ve hMSH2 Lynch sendromlu hastalarda germline mutasyonların hedefindeki en önemli iki proteindir ve bu hastalar kolorektal kanser başta olmak üzere pek çok kansere yakalanma açısından yüksek risk altındadır. Sporadik mikrosatellit instabil kolorektal karsinom olgularında hMLH1'in hipermetilasyonu DNA yanlış eşleşim onarım mekanizmalarının fonksiyon kaybının nedenini oluşturmaktadır. Mikrosatellit instabil olgular, DNA yanlış eşleşim onarım mekanizmaları korunmuş olan olgulara göre daha iyi prognoza sahiptirler. Ancak 5-FU (florourasil) tedavisine klinik yanıtsız oldukları bildirilmektedir(25).

Mikrosatellit değişikliklerinin bir diğer formu seçili tetranükleotid tekrarlarında artmış mikrosatellit değişiklikleridir (Elevated Microsatellite Alterations at Selected Tetranucleotide Repeats-EMAST). EMAST solid organ tümörlerinde değişen sıklıklarda raporlanmaktadır. Çalışmalarda kolon karsinomlarının %60'ında ve rektum karsinomlarının %33'ünde bildirilmektedir.

İmmünhistokimyasal olarak azalmış ve heterojen hMSH3 ekspresyonu EMAST-pozitif tümörlerde görülmektedir. Mikrosatellit instabil olguların aksine EMAST-pozitif tümörler kötü prognozla ilişkilendirilmektedir. (26).

MSH3 immünhistokimyasal boyanmasının heterojen olması ya da nükleer boyanmanın kaybı sıklıkla EMAST sporadik kolorektal karsinom olgularında görülmektedir. Bu fokal/heterojen kayıp MSH3'ün genetik kaybının olmadığına işaret etmektedir. Bazı immünolojik ve inflamatuar yanıtların EMAST tümörlerin patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir(27). Tseng-Rogenski ve arkadaşlarının IL-6 ve oksidatif stresin MSH3'ün nükleustan sitoplazmaya yer değiştirmesine neden olduğunu gösteren çalışmaları mevcuttur. Bu çalışmada kolon ve akciğer hücre kültürlerinde IL6 ve reseptör düzeyleri akım sitometri ve enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Proteinlerin yerleşimi immünfloresan ve immunoblot ile ortaya konulmuştur. IL-6 sinyal yolağı IL-6 çözünür reseptörüne ve STAT3'e karşı geliştirilen antikorlar ile bloke edilebilmiştir. EMAST, DNA fragman analizi ile tespit edilmiştir. IL6 ekspresyonu 20 olguda ayrıca immünhistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Sonuçta IL6 sinyal yolağının hMSH3'ün nükleustan sitoplazmaya geçişine neden olduğu ortaya konmuştur. EMAST pozitif tümörlerin negatif olanlara göre anlamlı şekilde daha fazla IL-6 ekspresyonu gösterdiği gösterilmiştir(28).

Bahsedildiği üzere MSI-H olguların 5-FU direnci kemoterapötik ajanın DNA'ya entegre olmasında MMR sistemini kullanmasından ileri gelmektedir. EMAST kolorektal karsinom olgularının 5-FU duyarlı olabileceği

düşünülmektedir. Günümüz MSI testleri MSI-H ve MSS kolorektal karsinom hastalarını tespit edebilmektedir. MSI panellerine henüz eklenmemiş olan tetranükleotid mikrosatellit belirteçleri EMAST kolorektal karsinomları tespit edebilecektir. Henüz tedavi seçiminde önemi olmadığı düşünülse de prognoz tayini ve gelecekteki tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesinde cerrahiye ek tedavi ihtiyacı olan olgular için MSI-H ya da EMAST karsinomların tanınması önemlidir(29, 30).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

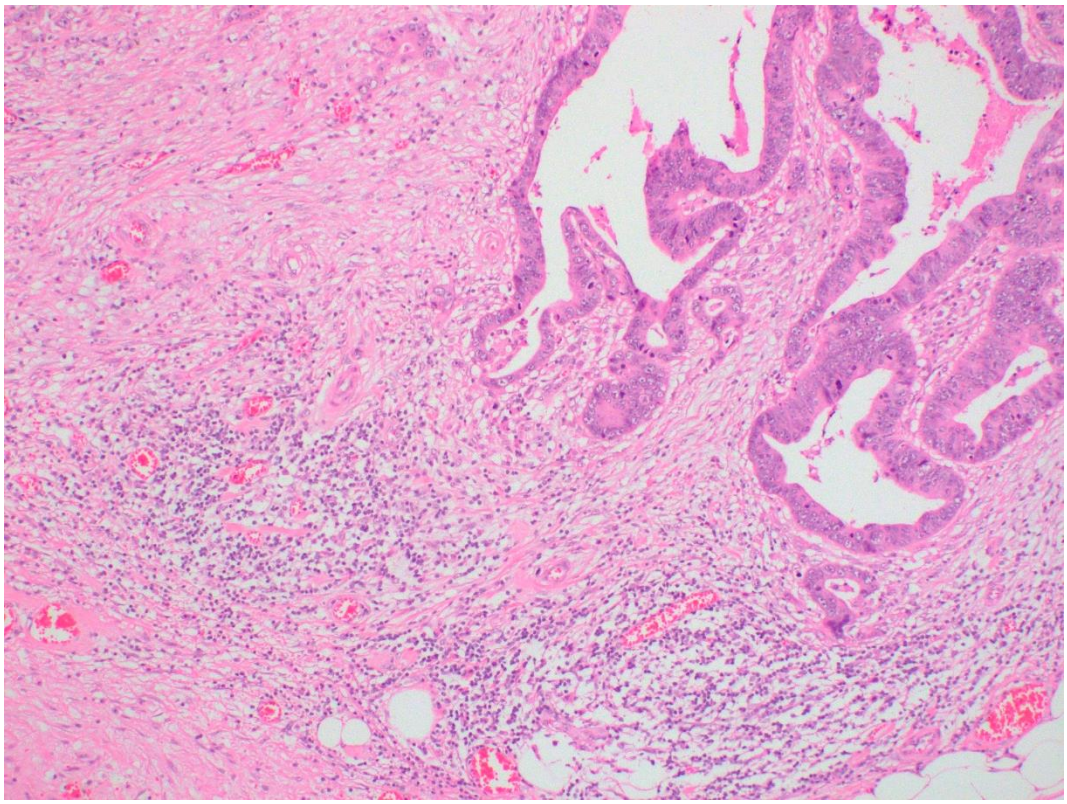
3.1 Olguların seçilmesi

2008-2016 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anablim Dalı'nda kolorektal adenokarsinom tanısı almış ve klinik izlem bilgisi mevcut olan 178 vakanın rezeksiyon materyalleri incelenmiştir. Hastaların tanısı, yaşı, cinsiyeti, tümör yerleşimi, patolojik tümör evreleri, bölgesel lenf nodu, uzak metastaz durumu kaydedilmiştir. Sağ kalım süreleri, ölüm verileri toplanmıştır. Bu 178 vakadan bloklarına ulaşılamayan, sağ kalım bilgileri net olarak ortaya konamayan 7 tanesi çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya sporadik olgular dahil edilmiş, senkron-metakron tümörü olan olgular çalışma dışı bırakılmıştır.

Çalışmamız ile ilgili Gazi Üniversitesi Ölçme Değerlendirme Etik Alt Çalışma Grubu'nun 10.10.2019 tarih ve 10 sayılı toplantısından 2019-316 kod numarasıyla etik kurul onayı alınmıştır. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından, 01/2019-58Nolu proje kod numarası ile desteklenmiştir.

3.2.Morfolojik parametreler

Güncel Dünya Sağlık Örgütü Sınıflaması'nda iki katmanlı derecelendirme sistemine göre tümör derecelendirmeleri yeniden gözden geçirilmiştir. Tümör içi lenfosit oranları yüzde olarak(Resim 1) skorlandırılmıştır. Bu yüzdelere göre TIL grupları düşük, orta ve yüksek olarak sınıflandırılmıştır.



Resim 3.1.Tümör invaziv sınırları içerisinde yoğun olarak izlenen mononükleer inflamatuar hücreler (x10)

3.3.Olguların hazırlanması

Formol fiksasyonunun iyi olduğu ve tümörün tipik alanlarını içeren, nekroz ve abse formasyonlarından olabildiğince uzak olduğu örneklerden IL-6, STAT3, hMSH3 ekspresyonunu belirlemek üzere kesitler hazırlanmıştır.

Belirteçlerin normal mukozadaki ekspresyonlarını tümörle karşılaştırabilmek amacıyla mümkün olan vakalarda kesitlere non tümöral mukoza da dahil edilmiştir.

3.4.İmmünhistokimyasal boyama

3.4.1.IL-6 boyama yöntemi

KRK parafin bloklarından pozitif şarjlı lamlara 3 µm kalınlığında kesitler alınmıştır.Kesitler 60°C etüvde 1 saat bekletildikten sonra, 3x5 dakika ksilole alınarak deparifinizasyonları sağlanmıştır. Daha sonra lamlar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip rehidrate (%100, %96, %80, %70) edilmiştir. Kesitler alkolden arındırılmak amacıyla iki kez 1'er dakika distile sudan geçirilmiştir. Antijen maskesini kaldırmak için 1/10 dilue EDTA Buffer (PH:8) (AP-9004-999 Thermo scientific) PT Modülü (A80400012 Lab Vision) ile 98 C'de 30 dk uygulanmıştır.

İmmünhistokimya cihazında rack yuvalarına lamlar coverplate ile birlikte takılmış, PBS ile 5 dakika yıkama yapılmıştır. Beş dakika %3'lük hidrojen peroksit(TA-125-HP Thermo Scientific) ile etkin bırakılan doku kesitleri endojen peroksidaz aktivitesi bloke edilmiştir. PBS ile yıkanan doku kesitleri 5 dakika Protein Bloke(TA-125-PBQ Thermo Scientific) edilmiştir.

Primer antikor IL-6 Antibody (Novus NBP2-44953) oda sıcaklığında 1 gece inkube edilmiştir. PBS ile 5 dakika yıkama yapılmıştır.Amplifier Quanto

(TL-125-QPB Thermo Scientific) 30 dakika bekletilmiştir. HRP Polymer Quanto (TL-125-QPH Thermo Scientific) 30 dakika bekletilmiştir. Her aşamada PBS ile yıkama yapılmıştır. Pozitif hücreleri belirleyebilmek için DAB Chromogen (TA-125-HD Thermo Scientific) ile boyama yapılmıştır. Zemin boyaması için 30 saniye süreyle Hematoksilen (HHS32 Sigma) uygulanmıştır. Distile su ile 2x1 dakika yıkandıktan sonra artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%70, %80, %96, %100), 2x1 dakika ksilole alınmış ve entellan (C1795 Merck) ile kapatılmıştır.

3.4.2.STAT3 boyama yöntemi

KRK parafin bloklarından pozitif şarjlı lamlara 3 µm kalınlığında kesitler alınmış, Ventana Benchmark immünhistokimya cihazına yerleştirilmiştir. Antijen retrieval için sitrat buffer içinde 1 saat cihazda bekletilmiştir. Primer antikor inkübasyonu için "STAT3 (9D8) NBP2-22471" cihazda 32 dk bekletilmiştir. Pozitif hücreleri belirleyebilmek için "Ultraview universal DAB detection kit" kullanılmıştır. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlanmıştır. Lamlar çeşme suyunda yıkanmış, sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutulmuştur. Entellan kullanılarak lamlar kapatılmıştır.

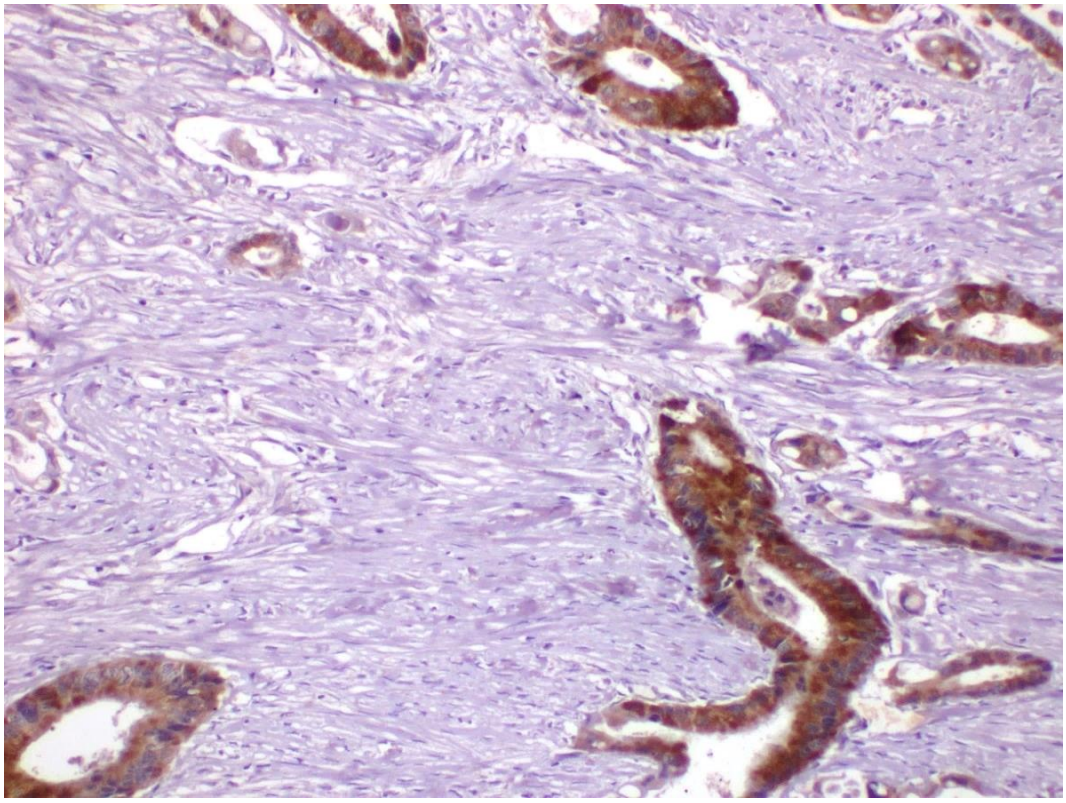
3.4.3.MSH3 boyama yöntemi

KRK parafin bloklarından pozitif şarjlı lamlara 3 µm kalınlığında kesitler alınmış, Ventana Benchmark immünhistokimya cihazına yerleştirilmiştir. Antijen retrival için EDTA buffer (pH:8.0) içinde 1 saat cihazda bekletilmiştir. Primer

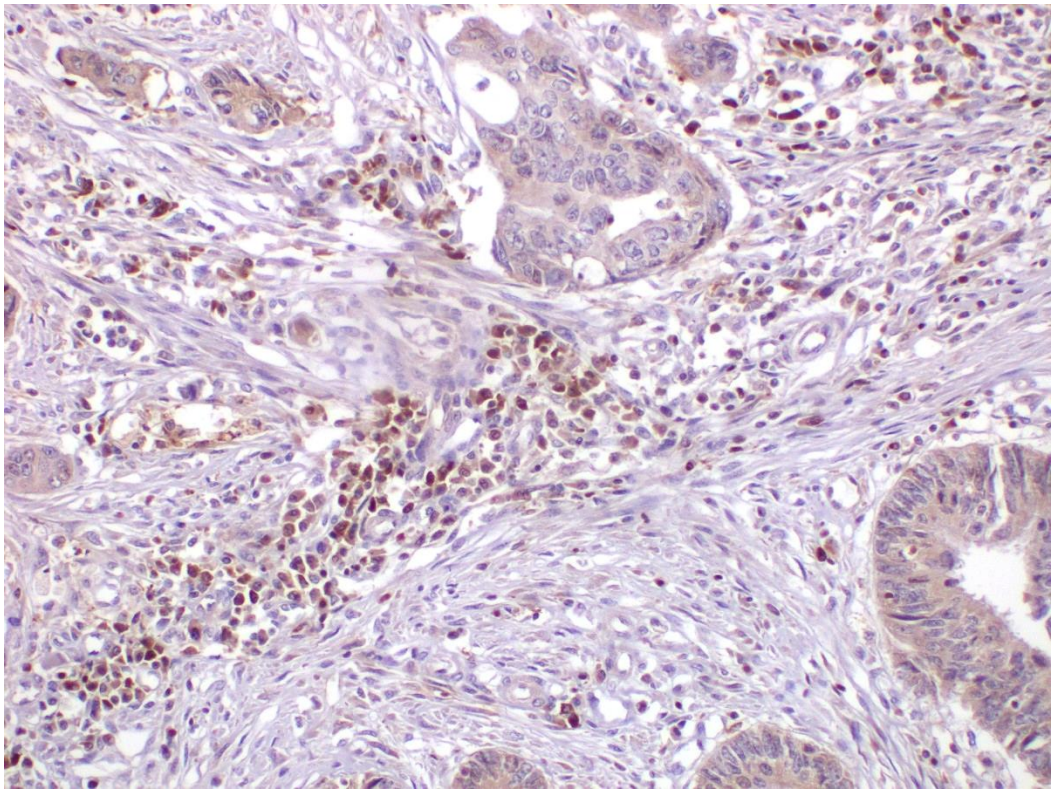
antikor inkübasyonu için “Anti-MSH3 antibody [EPR4334(2)]” cihazda 32 dk bekletilmiştir. Pozitif hücreleri belirleyebilmek için “Ultraview universal DAB detection kit” kullanılmıştır. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlanmıştır. Lamlar çeşme suyunda yıkanmış, sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutulmuştur. Entellan kullanılarak lamlar kapatılmıştır.

3.5.İmmünhistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi

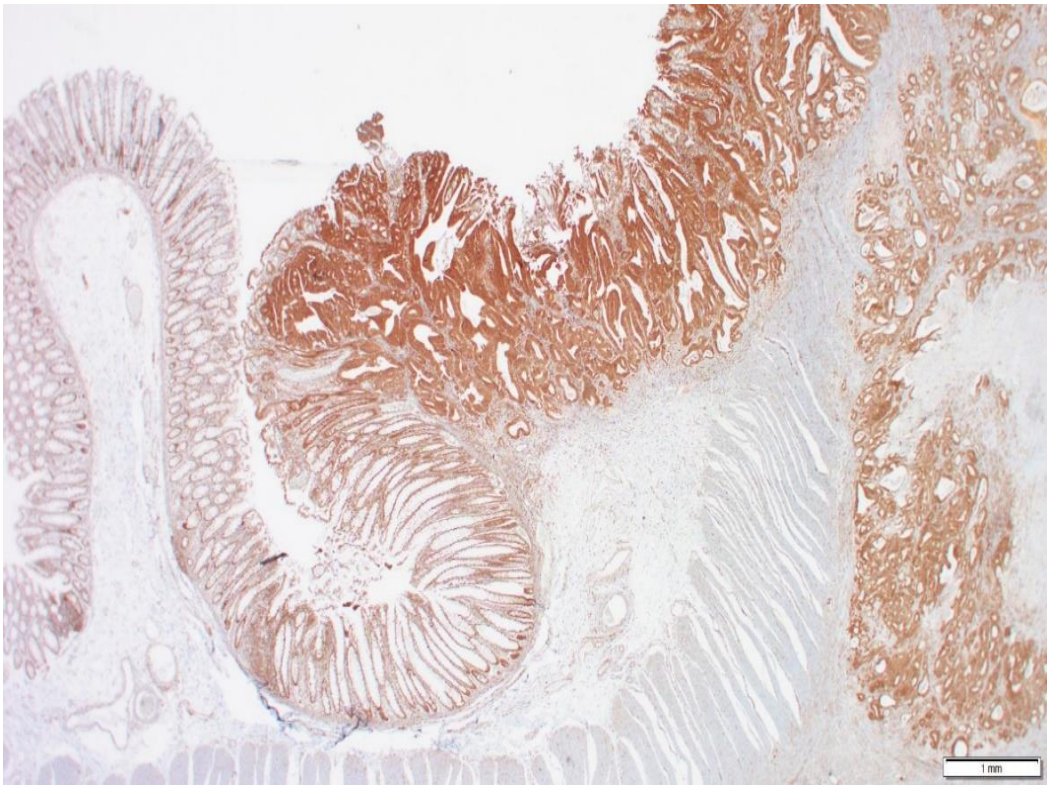
IL-6, STAT3 için boyanma yoğunluğu (boyanma yok=0, zayıf=1, orta=2, kuvvetli=3) değerlendirildi. Boyanan tümör hücrelerinin alanı, tüm tümör alanına bölünerek boyanma yaygınlığı yüzde olarak belirlenmiştir. Sitoplazmik-nükleer kahverengi boyanma anlamlı kabul edimiştir. MSH3 immünhistokimyasal boyamalarının değerlendirilmesinde iyi fikse, internal kontrolün çalıştığı alanlardaki nükleer boyanma, normal mukoza ya da tümör içi mononükleer hücrelerdeki boyanmayla karşılaştırılarak yoğunluk olarak 0,1,2,3 şeklinde skorlandırılmıştır. Nükleer boyanmanın olduğu tümör hücrelerinin tüm tümör hücrelerine oranına göre yaygınlık yüzde olarak belirlenmiş, yaygınlık ve yoğunluğun çarpımı Histoskor olarak hesaplanmıştır. Mikroskopik değerlendirmeler Olympus marka BX53 model ışık mikroskopta yapılmıştır.



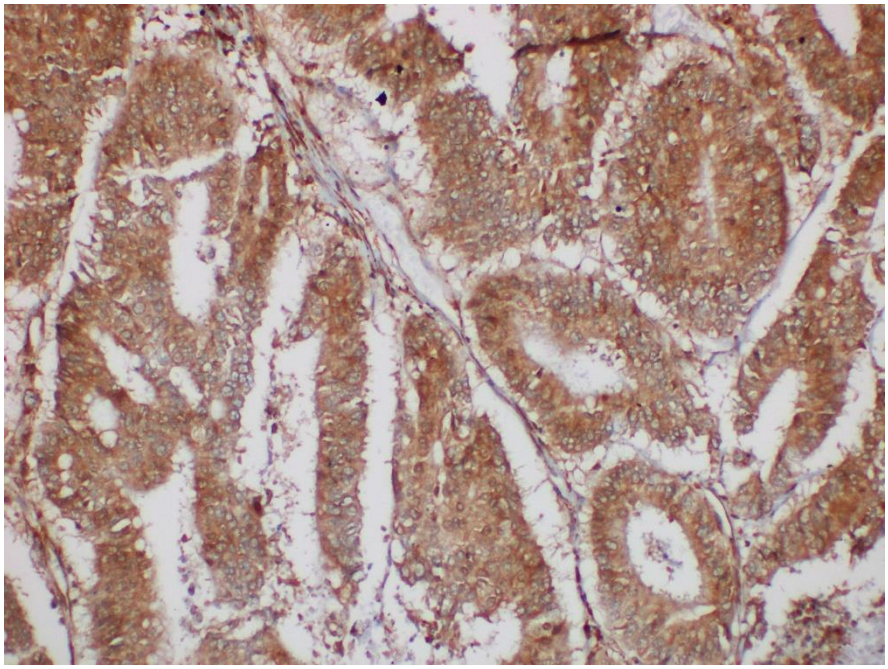
Resim 3.2.IL-6 ile %100 yaygınlıkta 3+ boyanma (x20)



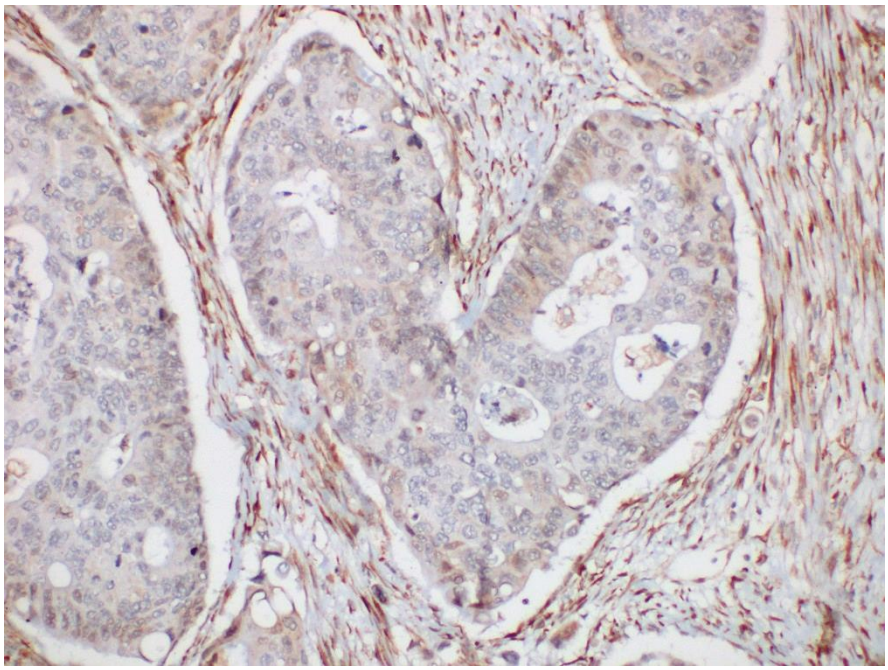
Resim 3.3.IL-6 ile internal kontrol olan inflamatuar hücrelerde boyanma (x20)



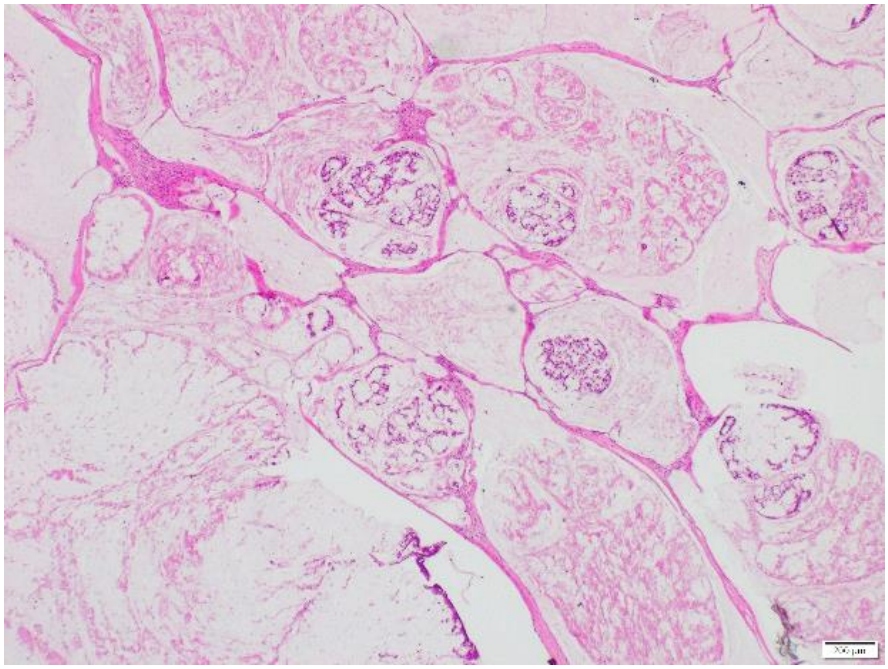
Resim 3.4.STAT3 ile tümörde normal kolona göre daha yoğun boyanma (x1,25)



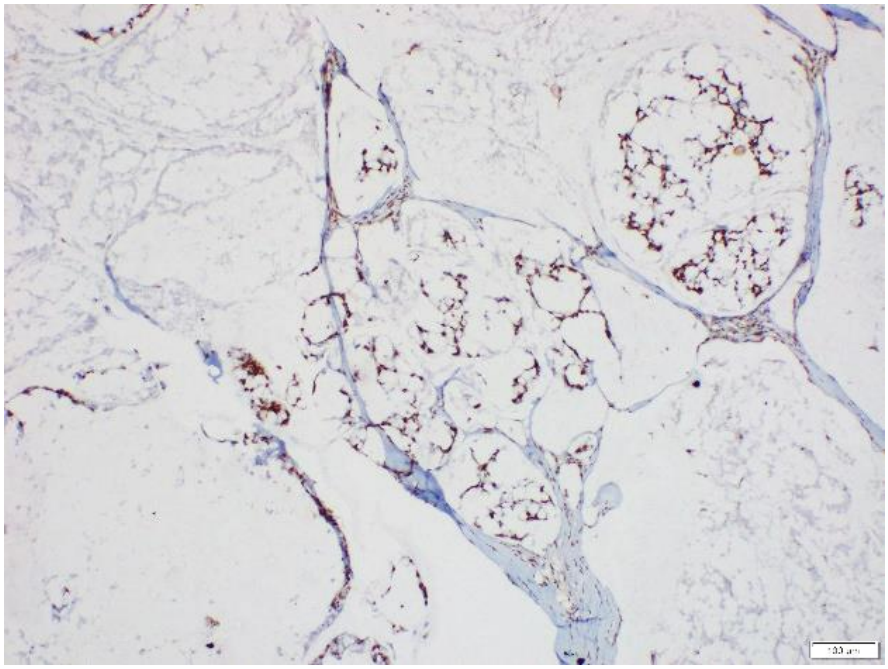
Resim 3.5.STAT3 ile %100 yaygınlıkta 2+ boyanma (x20)



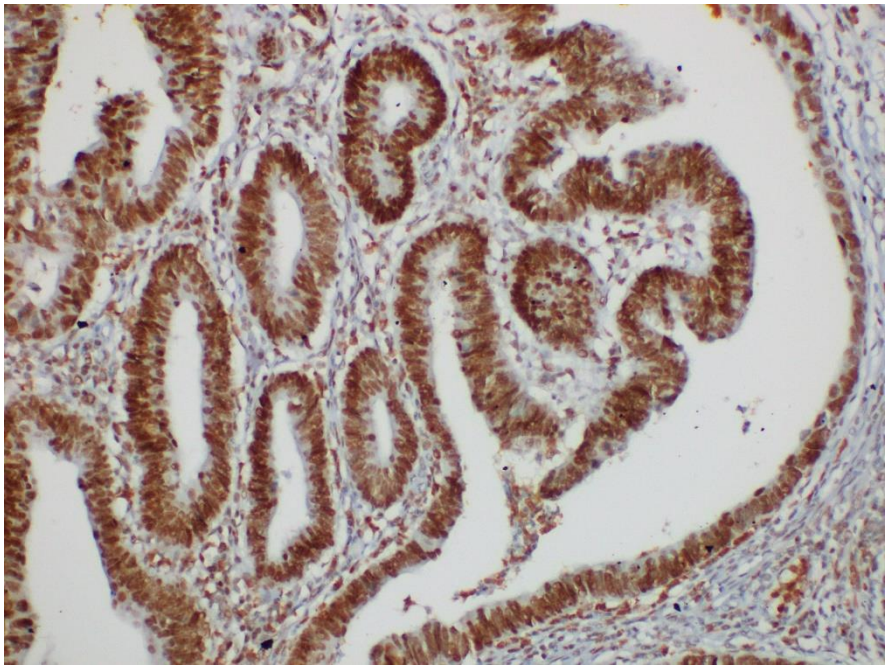
Resim 3.6.STAT3 (-) tümör hücreleri (x20)



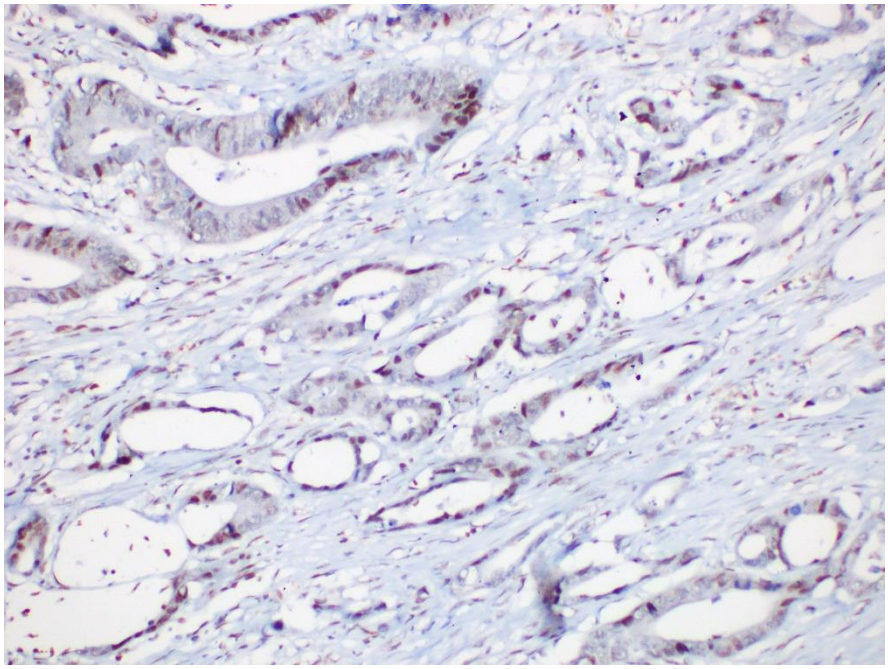
Resim 3.7.Müsinöz karsinom, hematoksilen&eozin boyası (x4)



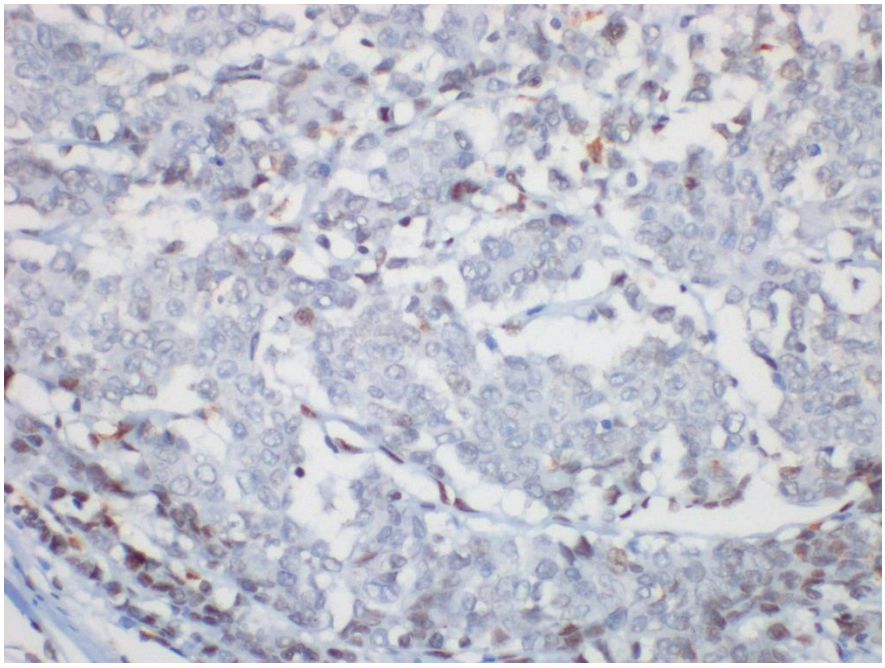
Resim 3.8.Müsinöz karsinom olgusunda%100 yaygınlıkta 3+ nükleer boyanma (x10)



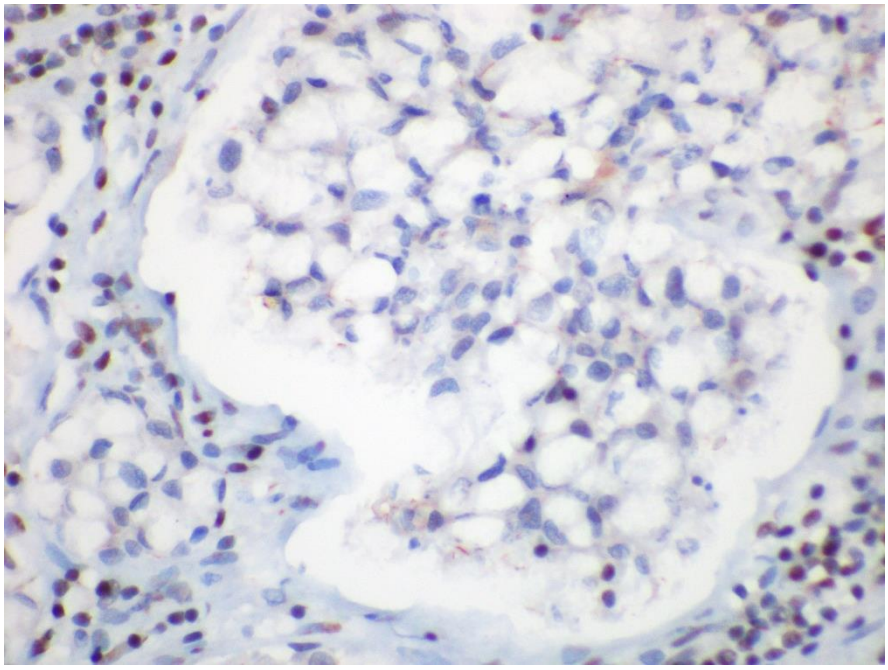
Resim 3.9. MSH3 %100 yaygınlıkta 3+ nükleer ekspresyonu (x20)



Resim 3.10.MSH3 ile tümör hücrelerinde azalmış ve heterojen nükleer ekspresyon (x20)



Resim 3.11.Tümör hücrelerinde MSH3 ekspresyon kaybı (x40)



Resim 3.12.Tümör hücrelerinde MSH3 ekspresyon kaybı (x60)

3.6. İstatistiksel yöntem

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov Smirnov Testi) kullanılarak incelenmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uymadığı tespit edilmiştir. Tanımlayıcı analizler yüzde olarak ve sürekli değişkenler ortalama±standart sapma(S) ve ortanca(minimum-maksimum) değerleri kullanılarak verilmiştir. Bağımsız gruplarda kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında pearson ki-kare testi ve ki-kare testinin şartlarının sağlanmadığında ise Monte-Carlo Exact test ile değerlendirilmiştir. Normal dağılıma uymayan verilerde, üç ve üzeri grup arasındaki karşılaştırma analizleri için Kruskal Wallis testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı çıkan değişkenlerin ikili grup değerlendirmesinde Bonferroni düzeltmesi yapılarak Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. İki grubun sürekli değişkenlerinin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin ilişkilerini değerlendirmek için Spearman korelasyon analizi yapılmıştır. Korelasyon katsayıları (r) 0,0-0,19 “çok zayıf”, 0,20-0,39 “zayıf”, 0,40-0,59 “orta”, 0,60-0,79 “güçlü”, 0,80-1,00 “çok güçlü” olarak değerlendirilmiştir. Remisyon durumunun zaman değişkeni ile değerlendirmesi log-rank testi ile yapılmış ve Kaplan Meier grafiği ile sunulmuştur. Sonuçlar %95 güven aralığında, istatistiksel hata payı (alfa hata) 0,05 olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel değerlendirme Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 25.0 (IBM SPSS Inc., Chicago, IL) programı kullanılarak yapılmıştır.

4.BULGULAR

4.1.Demografik ve klinik özelliker

Çalışmaya alınan 171 kolorektal adenokarsinom olgusundan 104'ü (%60,8) erkek, 67'si (%39,2) kadındır. Hastaların cerrahi sırasındaki yaşları 29 ve 85 arasında değişmekte olup ortalama yaş 60,1'dir. Rezeksiyon materyallerinin özelliğine göre tümör yerleşimleri incelendiğinde tümörlerin 57'sinin (%33,3) sağ kolon, 92'sinin (%53,8) sol kolon ve 22'sinin (%12,9) rektum kaynaklı olduğu görülmüştür. 1 Mart 2021 tarihine dek ortalama takip süresi 68,8 aydır. Hastaların 67'sinin (%39,2) öldüğü belirlenmiştir(Tablo 2). En kısa takip süresi 1 ay, en uzun takip süresi 153 aydır.

Tablo 4.1. Hastaların Takip Zaman Süreleri Ve Prognoz Özellikleri Dağılımı

Değişken	**n(%)**
Prognoz	
Remisyon	95(55,6)
Metastatik	9(5,3)
Ex	67(39,2)
Takip Zamanı (ay)	
Ortalama±Standart Sapma	68,8±39,3
Median (Min-Maks)	67(1-153)

4.2.Histopatolojik Özellikler

Patoloji raporlarından elde edilen verilere göre olguların eski derecelendirme sistemlerine göre derecelendirmeleri öğrenilmiş yeni iki katmanlı sisteme göre tüm derecelendirmeler revize edilmiştir. Geçtiğimiz yıllarda derecelendirilmeyen müsinöz karsinomlar için de güncel veriler ışığında iki katmanlı derecelendirme sistemi uygulanmıştır. Buna göre olguların 152'si (%88,9) düşük dereceli, 19'u (%11,1) yüksek derecelidir. Yeni DSÖ derecelendirme sistemine göre revize edilen yüksek ve düşük dereceli gruplar arasında ya da iyi, orta, az diferansiye gruplar arasında sağkalım açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır. Tümör diferansiyasyonu ve tümör yerleşimleri birlikte değerlendirildiğinde az diferansiye/yüksek dereceli tümörlerin sağ kolonda daha sık yerleştiği izlenmiştir(Tablo 3).

Tümör yerleşimi ile cinsiyet, yaş, TIL, pT, pN arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır

Tablo 4.2.Tümörün Yerleşim Yeri İle Diğer Değişkenlerin İlişkisi

	Sağ(n=57)	**Sol(n=92)**	**Rektum(n=22)**	**P**
Cinsiyet,n(%)				
Erkek	34(32,7)	53(51)	17(16,3)	0,231
Kadın	23(34,3)	39(58,2)	5(7,5)	
Grade (Eski) ,n(%)				
İyi	17(32,7)	27(51,9)	8(15,4)	**0,039**
Orta	28(28)	58(58)	14(14)	
Az	12(63,2)	7(36,8)	0(0)	
Grade (Yeni) ,n(%)				
Düşük	44(28,9)	86(56,6)	22(14,5)	**0,002**
Yüksek	13(68,4)	6(31,6)	0(0)	
PT Grup,n(%)				
pT1+pT2	4(16,7)	14(58,3)	6(25)	0,158
pT3	33(33,7)	53(54,1)	12(12,2)	
pT4	20(40,8)	25(51)	4(8,2)	
PN Grup,n(%)				
PN0	22(26,8)	50(61)	10(12,2)	0,172
PN1	27(45)	25(41,7)	8(13,3)	
PN2	8(27,6)	17(58,6)	4(13,8)	
TIL,n(%)				
Düşük	48(33,8)	78(54,9)	16(11,3)	0,315
Orta	7(29,2)	13(54,2)	4(16,7)	
Yüksek	2(40)	1(20)	2(40)	
Yaş				
Ort±S	60,1±12,5	59,9±11,5	61,0±13,6	0,896
Median(Min-Maks.)	62(36-84)	61(29-81)	62,5(30-85)	
Disseke Edilen lenf nodu				
Ort±S	30,7±16,6	18,8±10,3	22,1±10,1	**<0,001**
Median(Min-Maks.)	26(8-78)	16(2-46)	20,5(6-45)	
TIL				
Ort±S	11,9±17,2	9,8±11,8	16,1±20,4	0,444
Median(Min-Maks.)	5(0-90)	5(0-60)	5(0-70)	

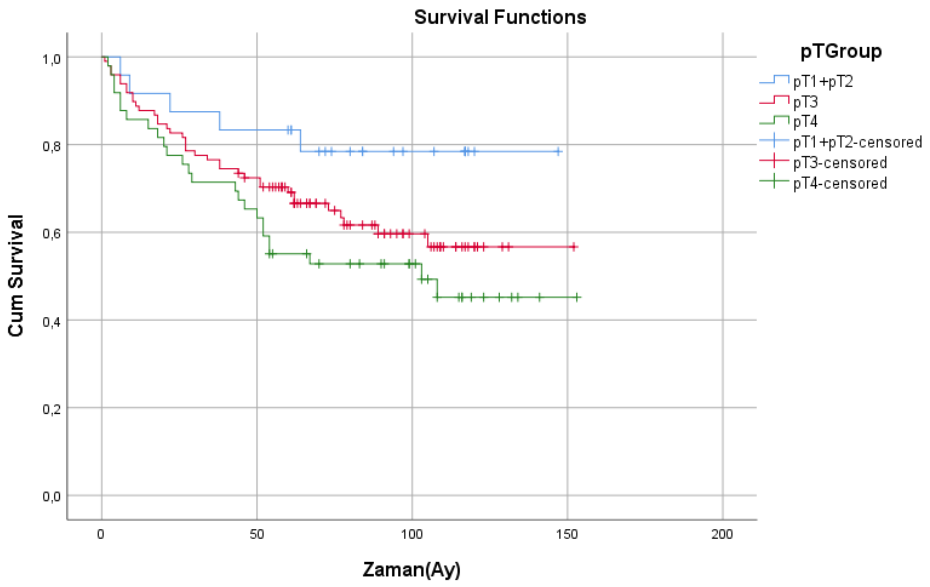
Olgulardan 5'i (%2,9) pT1, 19'u (%11,1) pT2, 98'i (%57,3) pT3, 49'u (%28,7) pT4 patolojik tümör evresindedir. pT1 ve pT2 olguların %79,2'si; pT3 olguların %62,2'si, pT4 olguların ise %49'u hayattadır. pN0 olguların %73,2'si; pN1 olguların %58,3'ü ve pN2 olguların %31'i hayattadır. pT ve pN evreleri

arttıkça hayatta kalan hasta sayısı istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmaktadır(Tablo 4).

Tablo 4.3. Sağ kalım ile diğer değişkenlerin ilişkisi

	Sağ(n=104)	**Ex(n=67)**	**P**
Cinsiyet,n(%)			
Erkek	65(62,5)	39(37,5)	0,575
Kadın	39(58,2)	28(41,8)	
Yerleşim,n(%)			
Sağ	33(57,9)	24(42,1)	0,809
Sol	58(63)	34(37)	
Rektum	13(59,1)	9(40,9)	
Grade(Eski) ,n(%)			
İyi	35(67,3)	17(32,7)	0,303
Orta	60(60)	40(40)	
Az	9(47,4)	10(52,6)	
Grade (Yeni) ,n(%)			
Düşük	94(61,8)	58(38,2)	0,463
Yüksek	10(52,6)	9(47,4)	
PT Grup,n(%)			
pT1+pT2	19(79,2)	5(20,8)	**0,042**
pT3	61(62,2)	37(37,8)	
pT4	24(49)	25(51)	
PN Grup,n(%)			
PN0	60(73,2)	22(26,8)	
PN1	35(58,3)	25(41,7)	**<0,001**
PN2	9(31)	20(69)	
TIL,n(%)			
Düşük	85(59,9)	57(40,1)	0,735
Orta	15(62,5)	9(37,5)	
Yüksek	4(80)	1(20)	
Yaş			
Ort±S	57,4±11,3	64,2±12,2	**<0,001**
Median(Min-Maks.)	59(29-82)	66(34-85)	
Disseke Edilen LN			
Ort±S	23,8±12,1	22,3±16,1	0,107
Median(Min-Maks.)	21,5(2-66)	18(2-78)	
TIL			
Ort±S	11,9±16,7	10,5±12,3	0,823
Median(Min-Maks.)	5(0-90)	5(0-70)	

Kaplan Meier sağkalım analizine göre pT1 ve pT2 olgularda ortalama sağ kalım 121,6 ay, pT3 olgularda 103,4 ay ve pT4 olgularda 90,7 aydır(Grafik 1).



Grafik 4.1.pT grubu ve sağ kalım ilişkisi

Tüm olgular birlikte değerlendirildiğinde diseke edilen lenf nodu sayısı ortalama 23,2'dir. Diseke edilen lenf nodu sayısı tümör yerleşimine göre değişkenlik gösterip sol kolon rezeksiyonlarında sağ kolon rezeksiyonlarına göre anlamlı olarak daha az lenf nodu diseke edildiği görülmüştür.

TIL oranının tümör yerleşimine göre değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi uygulandığında rektum yerleşimli tümörlerde TIL yüzdesi sağ ve sol kolon yerleşimli tümörlere göre fazla izlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. TIL oranları literatür verileri ışığında düşük, orta, yüksek olarak gruplandırıldığında da tümör lokalizasyonu ile TIL oranları arasında anlamlı ilişki görülmemiştir(Tablo 5,6,7).

Tablo 4.4. Hastaların TIL grubu dağılımları

Değişken	n(%)
TIL Grup	
Düşük	142(83)
Orta	24(14)
Yüksek	5(2,9)
TIL	
Ortalama±Standart Sapma	11,4±15,1
Median (Min-Maks)	5(0-90)

Tablo 4.5.Tümör lokalizasyonu ile TIL değer dağılımı ilişkisi

	Sağ (n=57)	Sol(n=92)	Rektum(n=22)	P
TIL				
Ort±S	11,9±17,2	9,8±11,8	16,1±20,4	0,444
Median(Min-Maks.)	5(0-90)	5(0-60)	5(0-70)	

Kruskal–Wallis Testi

Tablo 4.6.Tümör lokalizasyonu ile TIL ilişki durumu

	Sağ	Sol	Rektum	P
TIL, n(%)				
Düşük	48(33,8)	78(54,9)	16(11,3)	0,312
Orta	7(29,2)	13(54,2)	4(16,7)	
Yüksek	2(40)	1(20)	2(40)	

Ki-Kare Testi

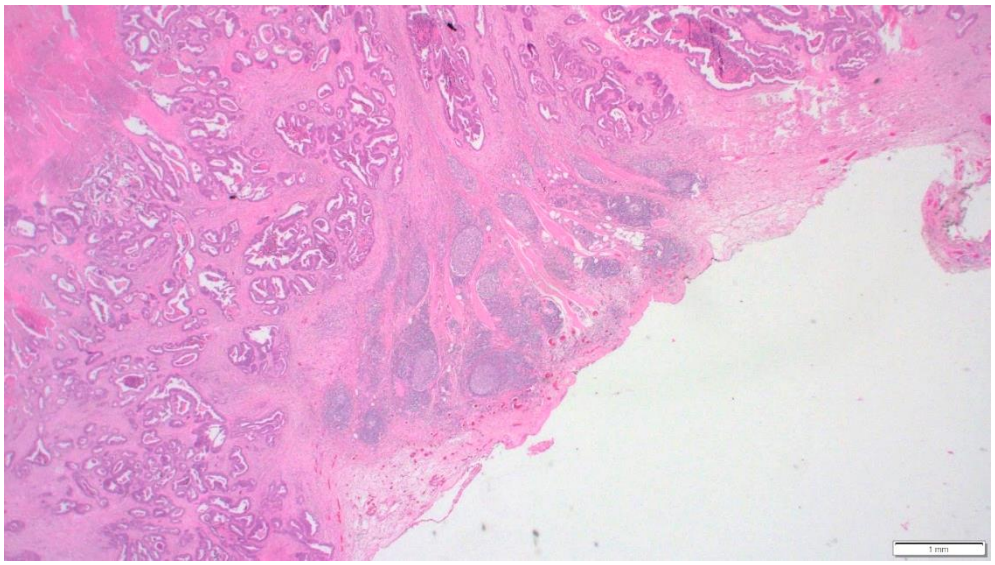
TIL oranları ile sağ kalım ilişkisi değerlendirildiğine yüksek olan grup için ortalama sağ kalım 121 ay, orta grup için 111,5 ay ve düşük grup için 90,6 ay olarak belirlenmiştir. Yüksek TIL oranına sahip grup en uzun sağkalıma sahip olarak izlenmiş olmakla birlikte TIL grupları arasında sağkalım farkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır(Tablo 8).

Tablo 4.7. Hastaların TIL grubu ile ortalama sağkalım süresidağılımı

	Ortalama Sağ kalım Zamanı				
	Zaman(Ay)	**Std. Hata**	**%95 Güven Aralığı**		P
TIL			**Alt Sınır**	**Üst Sınır**	
Düşük	90,648	4,533	81,764	99,531	
Orta	111,505	10,911	90,12	132,891	0,556
Yüksek	121	23,255	75,42	166,58	
Overall	103,28	4,779	93,912	112,647	

Log Rank Test

Histopatolojik incelemede 5 olguda peritümöral Crohn hastalığı benzeri lenfoid agregatlardikkati çekmiştir(Resim 13). Bu olguların ikisinde yüksek dereceli tümör morfolojisi görülmüştür. Bu olguların TIL oranları %20-90 oranında değişkenlik göstermektedir. İki olgu orta, üç olgu yüksek TIL oranına sahip olarak değerlendirilmiştir.



Resim 4.1. Peritümöral Crohn hastalığı benzeri lenfoid agregatlar (x1,25)

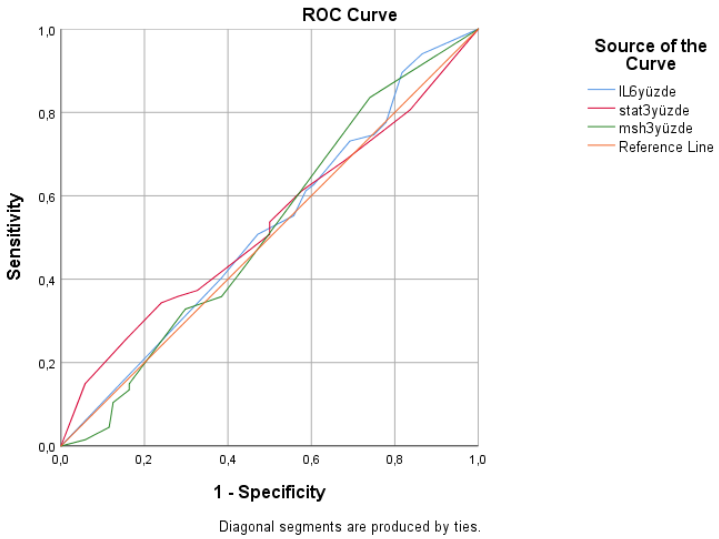
4.3. İmmünhistokimyasal boyama değerlendirmesi

IL-6 immünhistokimyasal boyanma yaygınlık frekansları Tablo 9'da gösterilmektedir. %60,8 olguda boyanma izlenmiştir. . IL6 immünhistokimyasal boyamaları için yaygınlık ve yoğunluk arasında anlamlı pozitif korelasyon izlenmektedir.

Tablo 4.8.IL-6yaygınlık frekans ve yüzdeleri

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	,00	67	39,2	39,2	39,2
	10,00	16	9,4	9,4	48,5
	20,00	12	7,0	7,0	55,6
	30,00	7	4,1	4,1	59,6
	40,00	3	1,8	1,8	61,4
	50,00	16	9,4	9,4	70,8
	60,00	7	4,1	4,1	74,9
	70,00	5	2,9	2,9	77,8
	80,00	12	7,0	7,0	84,8
	90,00	8	4,7	4,7	89,5
	100,00	18	10,5	10,5	100,0
	Total	171	100,0	100,0	

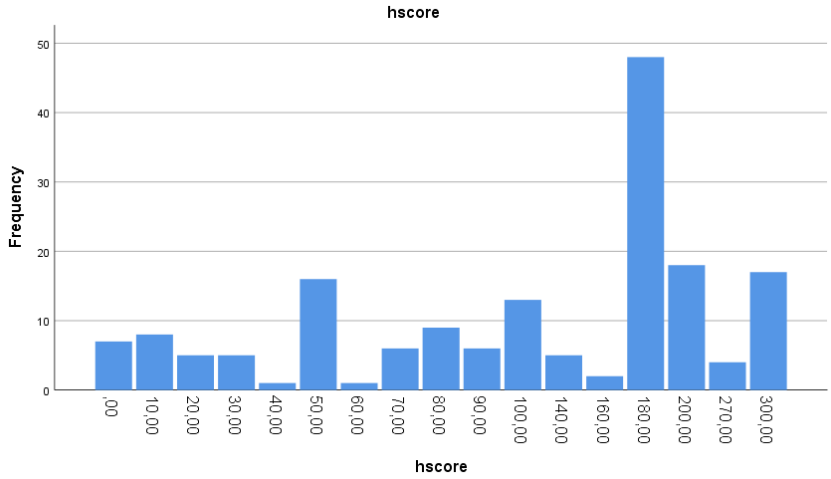
STAT3 ile %90,6 olguda boyanma izlenmiştir. STAT3 immünhistokimyasal boyamaları için yaygınlık ve yoğunluk arasında anlamlı pozitif korelasyon izlenmektedir. Buna ek olarak STAT3 için normal kolon mukozasında boyanma ile tümörde boyanma arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. Hasta yaşı, cinsiyeti, pT evresi, pN evresi, tümör yerleşimi, TIL oranı, tümör derecesi ile IL6, STAT3 boyanmaları arasında anlamlı fark görülmemiştir. Her iki antikorun boyanma yoğunluğu ve yaygınlığının sağkalım ve prognoz tayininde duyarlı belirteçler olup olmadığını göstermek amacıyla yapılan ROC(receiver operating characteristic) eğrisi analizinde eğrinin eğimi ve eğri altında kalan alan (AUC) verilerinin değerlendirilmesinde belirteçlerin sağkalım tayininde duyarlı ya da özgül belirteçler olmadığı düşünülmüştür. AUC analizi ve belirteçlerin ROC eğrileri grafik 2'degösterilmiştir.



	AUC	Std. Errora	P	AUC 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
IL6yaygınlık	0,522	0,045	0,633	0,434	0,61
stat3yaygınlık	0,532	0,047	0,479	0,441	0,623
msh3yaygınlık	0,52	0,044	0,667	0,432	0,607

Grafik 4.2.İmmünhistokimyasal belirteçlerin AUC analizi ve ROC eğrileri

MSH3 boyamalarında olguların 85'inde (%49,7) fokal ya da diffüz olarak kuvvetli nükleer boyanmanın kaybolduğu görülmüştür. Histoskor değerleri 0-300 arasında değişmektedir. Bu skorlamaya göre frekans grafiğiGrafik 3'te gösterilmiştir. 7 olguda nükleer ekspresyon tümüyle negatiftir.



Grafik 4.3. Histoskora göre frekans tablosu

MSH3 boyanmalarının yaygınlığı ve histoskor değerlerinin karşılaştırılmasında sağ kolon, sol kolon ya da rektum yerleşimli tümörler için anlamlı farklılık saptanmamıştır. TIL oranlarına göre değerlendirildiğinde ise TIL oranı yüksek olarak değerlendirilen olgularda MSH3 boyanma yaygınlığı ve histoskor, düşük ve orta olarak değerlendirilen olgulara göre anlamlı olarak azdır (p değeri 0,019 ve 0,035). TIL oranı yüksek olgularda MSH3 ekspresyonunun azaldığı dikkati çekmiştir(Tablo 10). Hasta yaşı, cinsiyeti, pT evresi, pN evresi, tümör yerleşimi, tümör derecesine göre MSH3 boyanmaları açısından anlamlı fark görülmemiştir.

Tablo 4.9.TIL ve immünhistokimyasal belirteçlerin boyanma yaygınlığı ilişkisi

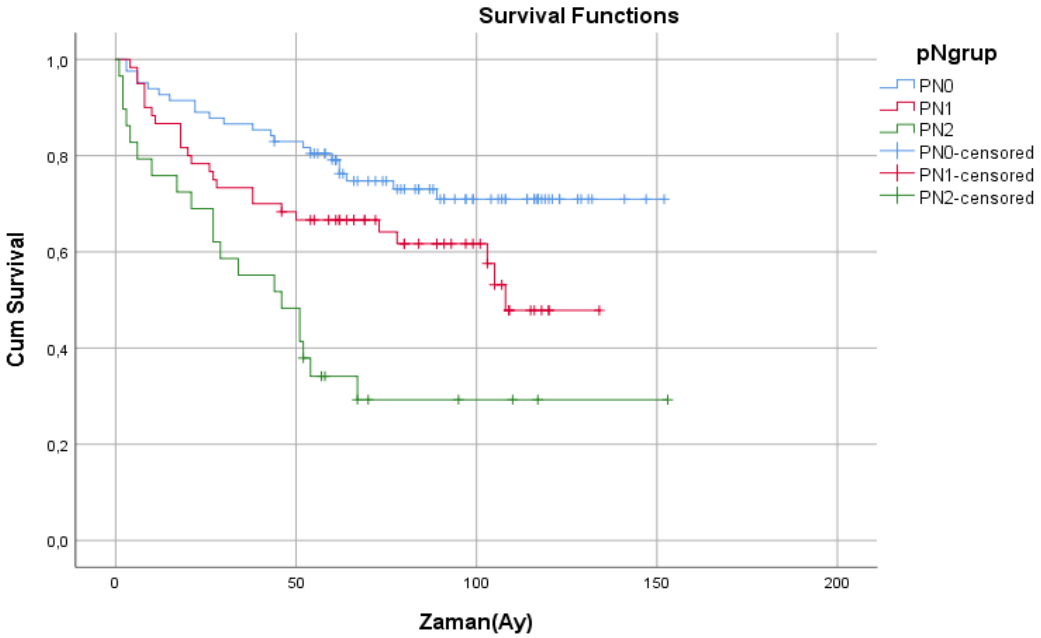
TIL		IL6yüzde	stat3yüzde	msh3yüzde	Hscore
Düşük	N	142	142	142	142
	Mean	35,7	55,8	73,9	144,6
	Std. Deviation	37,3	35,7	29,2	87,1
	Median	20	50	90	180
	Minimum	0,0	0,0	0,0	0,0
	Maximum	100,0	100,0	100,0	300,0
Orta	N	24,0	24,0	24,0	24,0
	Mean	26,7	60,8	71,7	120,0
	Std. Deviation	36,7	33,0	32,3	84,4
	Median	5	70	90	100
	Minimum	0	0	0	0
	Maximum	100,0	100,0	100,0	300,0
Yüksek	N	5	5	5	5
	Mean	14,0	60,0	32,0	48,0
	Std. Deviation	26,1	31,6	20,5	37,0
	Median	0	70	30	50
	Minimum	0	10	0	0
	Maximum	60	90	50	100
	P	0,242	0,884	**0,019**	**0,035**

5.TARTIŞMA

Çalışmamızda DSÖ verileriyle de paralellik gösterecek şekilde çoğu tümörün sol kolon ve rektum kaynaklı olduğu görülmüştür. Yüksek dereceli (az diferansiye) tümörlerin sağ kolonda daha sık yerleştiği dikkati çekmiştir. Literatürde sağ kolon tümörlerinin sıklıkla daha az diferansiye olması gibi morfolojik farklılıkların yanı sıra yaş ve cinsiyet dağılımları, büyüme paternleri, MSI durumları, prognozları ve tedaviye cevapları açısından önemli farklılıklar içerdiğini belirten veriler mevcuttur. Aynı organda iki ayrı lokalizasyondaki bu keskin farklılıkların sebebi embriyolojik dönemdeki farklı kökenleri ve yaşam boyu farklı karsinojenlere maruz kalmaları ile açıklanmıştır(31)(32).

pT evrelemesi KRK olgularında prognozu belirlemede ve raporlamada oldukça önemli bir parametredir. Olgularımızda beklendiği üzere pT arttıkça sağkalım anlamlı olarak azalmaktadır. Makroskopik ve histopatolojik incelemenin dikkatle yapılması pT ve pN evrelerinin belirlenmesi dolayısıyla klinik gidişin öngörülebilmesinde oldukça değerlidir. Diseke edilen lenf nodu sayısında patoloğun makroskopik incelemedeki çabası kadar spesmen ve hasta özellikleri de belirleyicidir(33). Lenf nodu metastaz durumu uzak metastazı olmayan olgularda adjuvan tedavi kararında belirleyicidir(34). Betge ve arkadaşlarının kılavuzlarda belirtilen en az 12 sayısının üzerinde yapılan diseksiyonların prognoz ve diğer parametrelerle ilişkisini araştırdıkları 381 KRK olgusunu içeren çalışmada ortalama 18.1 lenf nodu diseke edildiği saptanmıştır. Lenf nodu sayısının spesmen uzunluğu, tümör çapı ve tümör lokalizasyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Sağ

kolon tümörlerinde diseke edilen lenf nodu sayısının sol kolon tümörlerine göre anlamlıolarak fazla olduğu bulunmuştur. Özellikle T3/T4 olgularda 12'yi aşkın sayıda lenf nodu saptamak daha iyi klinik sonuçlarla ilişkilendirilmiştir(35). Sağ kolon tümörlerinde anlamlı olarak daha fazla lenf nodu diseke edildiğini belirten başka literatür verileri de mevcuttur(35-37). Çalışmamızda lenf nodu diseksiyon ortalamaları sağ kolon için 30,7, rektum tümörleri için 22,1 ve sol kolon tümörleri için 18,8'dir. Sağ kolon tümörlerinde, literatür ile uyumlu olarak daha fazla lenf nodu diseke edildiği görülmüştür. Sağ kolonun farklı embriyolojik gelişiminin olması ve mezenter kökünün daha uzun olması bu durumun olası açıklamalarıdır(38). pN2 hasta grubu pN0 ve pN1 gruplarına göre anlamlı olarak daha kısa sağkalım süresine sahiptir(Grafik 4).



Grafik 5.1. pN grubu ve sağ kalım ilişkisi

TIL ve prognoz arası ilişkiyi değerlendirmede 21015 kolorektal karsinom olgusunun 43 çalışma ile dahil edildiği bir meta analizde yüksek TIL oranlarının iyi prognozla ilişkilendirilebileği ortaya konmuştur. Bu çalışmalarda CD3, CD8, CD45R0, FOXP3 alt grupları tayin edilmiştir. Buna göre TIL ve spesifik TIL grupları prognostik biyobelirteçler olarak kullanlabilir(39). Çalışmamızda yüksek TIL grubundaki olgular en uzun sağ kalıma sahip olsalar da düşük, orta ve yüksek grubundaki olgular için sağkalım farkı istatistiksel olarak anlamlı değildir. TIL oranlarının yalnızca hematoksilen eozin kesitlerle değerlendirilmesi, immünhistokimyasal olarak alt grupların tayin edilmemesi, tümör içi heterojenitenin yüksek olduğu olgular ve çalışmamızda kullanılan kriterler, eşik değerler bu farklılığa neden olarak yorumlanabilir.

Bu çalışmanın odak noktalarından biri olan KRK'larda IL6 ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesinde 104(%61,1) olguda yaygınlığı %10 ile %100 arasında değişen IL-6 ekspresyonu görülmüştür. Bu 104 olgunun 35'inde sağ kolon, 57'sinde sol kolon ve 12'sinde rektum yerleşimli tümör vardır. Boyanma yaygınlığı, kuvveti ve iki değerin çarpımı (Hscore) ile pT, pN, cinsiyet, yaş, tümör yerleşimi, TIL oranı, sağkalım süreleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Literatürde IL-6'nın ileri pT, pN evresi ve azalmış sağkalım için bağımsız prognostik faktör olduğunu gösteren, 50 olguya immünohistokimyasal boyamanın uygulandığı bir çalışma mevcuttur(8). Bu çalışmada uygulanan immünhistokimyasal ekspresyon değerlendirme kriterleri çalışmamıza uygulandığında ve uygun istatiksel analizlerle değerlendirildiğinde anlamlı sonuç

elde edilememiştir. Bizim çalışmamızda daha fazla hasta değerlendirilmiş; ancak IL-6'nın farklı bir klonu kullanılmıştır. İki çalışma arasındaki uyumsuzluğu yaratan antikor klonu ya da değerlendirmelerin sübjektivitesi olabileceği gibi IL-6'nın iyi bir prognoz ya da sağkalım belirteç adayı olamayacak olması da muhtemeldir. Serum IL-6 ekspresyon düzeylerinin prognostik belirteçlerle ilişkisini inceleyen 18 çalışmayı kapsayan bir meta-analizde sonuçlar tartışmalıdır. pT, pN, TNM evresi, vasküler invazyon, uzak metastaz ile ilişkinin değerlendirildiği bu analizde 18 çalışmadan 11'inin anlamlı ilişki gösterdiği saptanmıştır. Çalışmaların çoğunda sadece birkaç parametreyle ilişki bulunmuştur(21). Serum IL-6 seviyesini araştıran çok sayıda yayın olmasına karşın KRK'lerde dokuda ekspresyonu araştıran nadir yayın bulunmaktadır ki bunlardan ilki 1999 yılında Kinoshita ve arkadaşlarına aittir. Çalışmalarında KRK olgularının %60'ında IL-6 ile boyanma görülmüştür(40). Chung ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise %46,3 olguda boyanma izlenmiştir. Yazarlar bu farkı Kinoshita ve arkadaşlarının çalışmasında poliklonal antikor kullanılmasına bağlamışlardır(41). Bizim çalışmamızda ise monoklonal antikor kullanılmış olup olguların %60,1'inde değişen yaygınlık ve yoğunlukta boyanma izlenmiştir. Karsinogenezde ve tümör invazyonu, metastazında IL-6'nın farklı işlevleri in vitro çalışmalar ile gösterilmiş ve serum IL-6 seviyelerinin prognostik önemi araştırılmış olsa da dokuda ekspresyonu gösteren daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Çalışmamız retrospektif olarak yürütüldüğünden dokudaki ekspresyonun serum ile ilişkisi ortaya konamamıştır. Farklı monoklonal ve poliklonal antikorların denenmesi, serum seviyelerinin araştırılması ve daha

büyük hasta gruplarıyla IL-6 ekspresyonunun gösterilmesi literatüre katkı sağlayacaktır. IL-6 elimizdeki veriler ile uygun bir prognostik belirteç olarak görülmemiştir. Ancak literatürde preklinik fare modellerinde anti IL-6 tedavilerin immün kontrol noktası inhibitörlerine duyarlılığını arttırdığını gösteren verilerin mevcut olması nedeniyle gelecekte anti-IL6 terapilerin kullanılması ihtimali göz önüne alındığında çalışmamız boyanma insidansını ortaya koymuş olması nedeniyle önemlidir. (42). Ayrıca immünhistokimyasal boyanma ile prognoz ilişkisini değerlendiren çalışmalar arasında bildiğimiz kadarıyla en büyük hasta grubunu ve en uzun takip süresini içermektedir.

KRK patogenizde sitokinlerin JAK/STAT3 yolağının aktivasyonunun hiperproliferatif ve invaziv özellikle ilişkili olduğu gösterilmiştir(43). Biz de çalışmamızda KRK'da STAT3 immünhistokimyasal boyanma sıklığını ve IL6 ile ilişkisini incelemeyi amaçladık. STAT3 olguların 155'inde (%91) değişen yaygınlık ve yoğunlukta boyanma göstermektedir. IL-6 boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu artmış gruplarda STAT3 histoskor değeri diğer gruplara göre daha fazladır; ancak fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p değeri 0,426 ve 0,537). Literatürde KRK ve adenom olgularında STAT3 ekspresyonunu inceleyen ilk çalışma olan Kusaba ve arkadaşlarının çalışmasında %55,4 olguda immünreaktivite izlenmiş ve boyanma lenf nodu metastazı yapma, tümör invazyonu ve venöz invazyon ile ilişkilendirilmiştir(44). Burada olgularımızın tamamının invaziv karsinom olması, kullandığımız klonun fosforile forma spesifik olmaması ve çalışmalarda sübjektif metodlarla değerlendirme yapılmış

olması nedeniyle daha yüksek boyanma insidansına sahip olduğumuz düşünülebilir. Prognoz ve sağkalım tayininde IL-6'ya benzer olarak ROC eğrisi ve AUC değerlerinin analizinde iyi bir belirteç olmadığı düşünülmüştür.

Literatürde 2346 KRK hastasının dahil edildiği, 17 çalışmanın incelendiği en kapsamlı meta analizde p-STAT3 ekspresyonu lenf nodu metastazı ile ilişkili bulunmuş; ancak TNM evrelemesi, tümör derecesi ya da cinsiyetle anlamlı ilişki saptanmamıştır(45). STAT3'ün prognozla ilişkisini açıklayacak çok sayıda çalışma mevcut olsa da çalışmamız IL-6/JAK/STAT3 yolağını immünhistokimyasal olarak ortaya koymayı hedeflemiş olması nedeniyle önemlidir. IL-6 yoğun eksprese eden tümörlerde STAT3 ekspresyonunun da artmış olarak izlenmesi istatistiksel olarak anlamlı izlenmese de bu yolağın aktive olduğunu düşündürebilir. Sadece fosforile STAT3'e spesifik, nükleer boyanmanın sağlanabildiği bir başka klonla çalışmaların yapılması IL6/JAK/STAT3 yolağını hedefleyecek gelecek tedaviler ve prognoz belirlemedeki tartışmaları sonlandırabilecek olması açısından önemlidir.

Çalışmamızda en önemli soru in vitro olarak gösterilmiş olan IL-6'nın ve oksidatif stresin STAT3 aracılığıyla MSH3'ü nükleustan sitoplazmaya yer değiştirmesinin immünhistokimyasal analizler ile gösterilip gösterilemeyeceğidir. Ayrıca oksidatif stres ve IL-6 ile ilişkili olduğu varsayılan EMAST pozitif KRK olgularının MSH3 heterojen ya da azalmış ekspresyonuyla belirlenip belirlenemeyeceği tartışmalıdır. 2019 yılına dek KRK olgularında MSH3 boyanmasının değerlendirildiği üç çalışma mevcuttur(30, 46, 47). 2019 yılında ise

Watson ve arkadaşları MSH3 ekspresyonunun EMAST ile ilişkisini daha objektif değerlendirebilecek bir metod arayışına girmiş ve immünistokimyasal belirtecin değerlendirilmesinde dijital analizi kullanmışlardır. 152 olgunun değerlendirildiği bu çalışmada olguların PCR ile değerlendirilmesinde 50 olgunun (%33) EMAST pozitif olduğu ve 44'ünün aynı zamanda MSI-H olduğu ortaya konmuştur. EMAST durumu ile MSH3 boyanmasındaki kayıp ilişkili bulunmamıştır. EMAST olguların ve MSI-H olguların büyük oranda örtüşmesi nedeniyle EMAST'ın ayrı bir antite değil MSI-H olguların bir grubu olabileceği düşünülmüştür. Bu hipotezi destekleyen bir başka nokta EMAST olguların da MSI-H olgular gibi sıklıkla proksimal kolonda yerleşmesidir(48). EMAST durumuyla MSH3 boyanmasının ilişkilendirilemeyeceğini destekleyen, 40 pankreatik duktal adenokarsinomun incelendiği başka bir çalışma da mevcuttur(49).

Bizim çalışmamızda PCR tekniği kullanılmadığından olguların EMAST durumları net olarak ortaya konulamamıştır. Ancak sınırlı sayıdaki MSH3 immünhistokimyasal değerlendirmesinin olduğu literatüre katkısı olabilecek olması ve IL6/STAT3/MSH3 yolağını incelemesi nedeniyle faydalı olabileceği düşünülmüştür. Olgularımızın %49,7'sinde fokal ya da diffüz MSH3 kaybının olduğu izlenmiştir. Yedi olguda boyanma görülmemiştir. Hasta yaşı, cinsiyeti, pT evresi, pN evresi, tümör yerleşimi, tümör derecesi ile MSH3 boyanması arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Ancak TIL yani tümöre immün yanıtın yüksek olduğu olgularda MSH3 boyanmasının diğer gruplara göre anlamlı olarak daha az olduğu belirlenmiştir. MSH3'ün EMAST durumunu belirleyip belirleyemeceği

tartışmalıdır. Ancak böyle bir ilişkinin ortaya konması durumunda TIL yüksek vakalarda MSH3 kaybının görülmesi MSI-H olgular gibi EMAST pozitif tümörlerin de fazla immün cevaba sahip olduğunu göstermiş olmamız katkı sağlayabilir. Ayrıca olguların yaklaşık yarısında görülen bu bulgunun tümörü başlatan "driver" bir olay değil tümörogenez sürecinde ve yaşlanmayala gerçekleşebilen bir değişiklik olduğu savunulabilir. Bu nedenle görece fazla sayıda olgunun incelemeye alındığı çalışmamızda MSH3 boyanma kaybının ortaya konması literatüre katkı sağlayacaktır.

IL6/STAT3/MSH3 yolağının immünhistokimyasal değerlendirmesinde IL6 boyanması arttıkça MSH3 boyanmasında anlamlı değişiklik saptanmamıştır. STAT3 boyanma yaygınlığı ile MSH3 yaygınlığı arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır ($p<0,01$). Ancak bu bulgular yolağın aktive oluşunda beklenen bir sonuç değildir. Sonuç olarak hücre kültürü çalışmaları ile gösterilmiş olan IL-6/STAT3/MSH3 yolağı imünhistokimyasal belirteçler ile gösterilememiştir. Bu çalışma bu üç belirtecin birlikte insan dokusunda kullanıldığı ilk çalışmadır. Farklı klonlar, farklı hasta sayıları ile çalışmaların yapılması sonuçları değiştirebilir. Ayrıca Crohn hastalığı ya da ülseratif kolit olduğu bildirilen olgularla yapılacak çalışmalar inflamasyonun yoğun olduğu ve tümörogenezin esas nedeni olduğu kesinleşen bu vakalarda yolağın immünhistokimyasal olarak kanıtlanmasını kolaylaştıracaktır. Ancak bu çalışmada günlük rutin pratiğimizde çok sık gördüğümüz, gastrointestinal sistemin en sık tümörü olan KRK olgularında sıklıkla IL-6 ve STAT3 artmış

ekspresyonunun ve MSH3 nükleer ekspresyon kaybının olduğunu ortaya koymuştur.

Çoğu organ-sistem tümöründe olduğu gibi KRK olgularında da moleküler subtipleme mevcuttur. “Hypermutated” olgularda MSH3’ün rolü şimdilik tartışmalıdır. Olgularımızda IL-6 artmış ekspresyonunun MSH3’ün nükleer boyanma kaybına neden olduğu kanıtlanamamıştır. Literatürde de pankreatik duktal adenokarsinom olgularında yapılan çalışmada IL6 ekspresyonuu ile MSH3 boyanması arasında anlamlı ilişkinin bulunamadığı çalışma mevcuttur(49). Burada MSH3’ün kaybını açıklayabilecek başka mekanizmalar düşünülebilir. Literatürde bu konuyla ilgili en güncel açıklamanın Watson ve arkadaşlarına ait olduğu düşünülmüştür. Bu açıklama MLH-1 kaybının *MSH-3* genindeki mononükleotid tekrar aracılığıyla çerçeve kaymasına neden olabileceği yönündedir(48). Yakın zamana dek MSH3’ün germline mutasyonu olmadığı düşünülse de 2016 yılında Adam ve arkadaşları açıklanamayan adenomatöz polipozis olan 102 olguyu dahil ettikleri çalışmada iki olguda *MSH3* geninde iki ayrı germline mutasyon tespit etmişlerdir(50).

Son olarak bahsedilen bu MLH-1, MSH-3 ilişkisini ortaya koyabilmek ve EMAST vakaların MSI-H olguların bir formu olabileceği hipotezini araştırmak amacıyla gelecekte MSH-3 ekspresyon kaybı olan olgularımızın MSI durumlarını immünhistokimya ve mümkünse polimeraz zincir reaksiyonu (polimerase chain reaction-PCR) ile analiz etmek amaçlanmıştır.

6. SONUÇLAR

- Gastrointestinal sistemin en sık tümörü olan ve ülkemizde de insidansı giderek artmakta olan KRK'lar için standart tedavilere ek tedavi seçeneklerinin bulunmasının gerekliliği açıktır.
- Preklinik deneyleri olan anti IL-6 tedavilere uygun hasta seçimi için rezeksiyon materyallarinde IL-6 ekspresyonunun incelenmesi faydalıdır. Çalışmamızda hastaların %60,8'inde değişen yaygınlık ve yoğunluklarda boyanma izlenmiştir.
- IL6 ve oksidatif stresin STAT3'ün fosforilasyonu aracılığıyla MSH3'ün nükleustan sitoplazmaya geçmesine ve tümör gelişimine neden olduğu hücre kültürlerinde gösterilmiştir. Çalışmamızda bu yolak sporadik olgularla araştırılmış; ancak aşikar kanıt bulunamamıştır. Bu çalışma bu üç immünhistokimyasal belirtecin KRK'larda birlikte araştırıldığı ilk çalışmadır.
- MSH3'ün heterojen ya da azalmış boyanması literatürde EMAST adı verilen mikrosatellit değişikliğinin bir formu ile ilişkilendirilse de tartışmalı bulgular mevcuttur. Çalışmamızda olguların yaklaşık yarısında azalmış MSH3 ekspresyonu görülmüştür. MSH3 ekspresyonunun yüksek TIL grubunda anlamlı olarak daha az olduğu saptanmıştır.

- IL-6, STAT-3 ve MSH-3 boyanma yaygınlık ya da yoğunluklarıyla sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bu belirteçlerin sağkalımı belirlemede sensitif belirteçler olmadığı düşünülmüştür.
- MSH3 boyanmasının insan dokusunda değerlendirildiği geniş hasta sayısına sahip çalışmalardan biridir. Boyanma kaybı izlenen olguların MSI durumlarının PCR ve immünhistokimya ile değerlendirilebileceği yeni çalışmalara yön verebileceği düşünülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018;68(6):394-424.

2. Gültekin, M. and G.J.S.B. Boztaş, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye kanser istatistikleri. 2014. 43

3. Bouvard V, Loomis D, Guyton KZ, Grosse Y, Ghissassi FE, Benbrahim-Tallaa L, et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. The Lancet Oncology. 2015;16(16):1599-600.

4. Müller MF, Ibrahim AE, Arends MJ. Molecular pathological classification of colorectal cancer. Virchows Arch. 2016;469(2):125-34.

5. Wang K, Karin M. Tumor-Elicited Inflammation and Colorectal Cancer. Adv Cancer Res. 2015;128:173-96.

6. Virchow R. As Based upon Physiological and Pathological Histology. Nutrition Reviews. 1989;47(1):23-5.

7. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? The Lancet. 2001;357(9255):539-45.

8. Zeng J, Tang ZH, Liu S, Guo SS. Clinicopathological significance of overexpression of interleukin-6 in colorectal cancer. World J Gastroenterol. 2017;23(10):1780-6.

9. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. Histopathology. 2020;76(2):182-8.

10. Rosty C, Hewett DG, Brown IS, Leggett BA, Whitehall VL. Serrated polyps of the large intestine: current understanding of diagnosis, pathogenesis, and clinical management. J Gastroenterol. 2013;48(3):287-302.

11. De Palma FDE, D'Argenio V, Pol J, Kroemer G, Maiuri MC, Salvatore F. The Molecular Hallmarks of the Serrated Pathway in Colorectal Cancer. Cancers. 2019;11(7):1017.

12. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell. 1990;61(5):759-67.

13. JE IJ, Vermeulen L, Meijer GA, Dekker E. Serrated neoplasia-role in colorectal carcinogenesis and clinical implications. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2015;12(7):401-9.

14. Ullman TA, Itzkowitz SH. Intestinal Inflammation and Cancer. Gastroenterology. 2011;140(6):1807-16.e1.

15. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. Nature Medicine. 2015;21(11):1350-6.

16. Menter DG, Davis JS, Broom BM, Overman MJ, Morris J, Kopetz S. Back to the Colorectal Cancer Consensus Molecular Subtype Future. Curr Gastroenterol Rep. 2019;21(2):5.

17. Luo C, Cen S, Ding G, Wu W. Mucinous colorectal adenocarcinoma: clinical pathology and treatment options. Cancer Communications. 2019;39(1):13.

18. Nagtegaal ID AM, Salto-Tellez M. . WHO Classification of Tumours: Digestive System Tumours. (Ed) WCoTEB, editor. Lyon: International Agency for Research on Cancer,; 2019.

19. Williams DS, Mouradov D, Newman MR, Amini E, Nickless DK, Fang CG, et al. Tumour infiltrating lymphocyte status is superior to histological grade, DNA mismatch repair and BRAF mutation for prognosis of colorectal adenocarcinomas with mucinous differentiation. Modern Pathology. 2020;33(7):1420-32.

20. Fuchs TL, Sioson L, Sheen A, Jafari-Nejad K, Renaud CJ, Andrici J, et al. Assessment of Tumor-infiltrating Lymphocytes Using International TILs Working Group (ITWG) System Is a Strong Predictor of Overall Survival in Colorectal Carcinoma: A Study of 1034 Patients. The American Journal of Surgical Pathology. 2020;44(4):536-44.

21. Vainer N, Dehlendorff C, Johansen JS. Systematic literature review of IL-6 as a biomarker or treatment target in patients with gastric, bile duct, pancreatic and colorectal cancer. Oncotarget. 2018;9(51):29820-41.

22. Kaur S, Bansal Y, Kumar R, Bansal G. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. Bioorg Med Chem. 2020;28(5):115327.

23. Wang SW, Sun YM. The IL-6/JAK/STAT3 pathway: potential therapeutic strategies in treating colorectal cancer (Review). Int J Oncol. 2014;44(4):1032-40.

24. Chen MH, Chang SC, Lin PC, Yang SH, Lin CC, Lan YT, et al. Combined Microsatellite Instability and Elevated Microsatellite Alterations at Selected Tetranucleotide Repeats (EMAST) Might Be a More Promising Immune Biomarker in Colorectal Cancer. Oncologist. 2019;24(12):1534-42.

25. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. Gastroenterology. 2008;135(4):1079-99.

26. Haugen AC, Goel A, Yamada K, Marra G, Nguyen TP, Nagasaka T, et al. Genetic instability caused by loss of MutS homologue 3 in human colorectal cancer. Cancer Res. 2008;68(20):8465-72.

27. Koi M, Tseng-Rogenski SS, Carethers JM. Inflammation-associated microsatellite alterations: Mechanisms and significance in the prognosis of patients with colorectal cancer. World J Gastrointest Oncol. 2018;10(1):1-14.

28. Tseng-Rogenski SS, Hamaya Y, Choi DY, Carethers JM. Interleukin 6 alters localization of hMSH3, leading to DNA mismatch repair defects in colorectal cancer cells. Gastroenterology. 2015;148(3):579-89.

29. Raeker MO, Carethers JM. Immunological Features with DNA Microsatellite Alterations in Patients with Colorectal Cancer. J Cancer Immunol (Wilmington). 2020;2(3):116-27.

30. Tajima A, Hess MT, Cabrera BL, Kolodner RD, Carethers JM. The mismatch repair complex hMutS alpha recognizes 5-fluorouracil-modified DNA: implications for chemosensitivity and resistance. Gastroenterology. 2004;127(6):1678-84.

31. Carethers JM. One colon lumen but two organs. Gastroenterology. 2011;141(2):411-2.

32. Baran B, Mert Ozupek N, Yerli Tetik N, Acar E, Bekcioglu O, Baskin Y. Difference Between Left-Sided and Right-Sided Colorectal Cancer: A Focused Review of Literature. Gastroenterology Res. 2018;11(4):264-73.

33. Fleming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. J Gastrointest Oncol. 2012;3(3):153-73.

34. Rousseau B, Chibaudel B, Bachet JB, Larsen AK, Tournigand C, Louvet C, et al. Stage II and stage III colon cancer: treatment advances and future directions. Cancer J. 2010;16(3):202-9.

35. Betge J, Harbaum L, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Kornprat P, Ebert MP, et al. Lymph node retrieval in colorectal cancer: determining factors and prognostic significance. Int J Colorectal Dis. 2017;32(7):991-8.

36. Moro-Valdezate D, Pla-Martí V, Martín-Arévalo J, Belenguer-Rodrigo J, Aragó-Chofre P, Ruiz-Carmona MD, et al. Factors related to lymph node harvest: does a recovery of more than 12 improve the outcome of colorectal cancer? Colorectal Dis. 2013;15(10):1257-66.

37. Mekenkamp LJ, van Krieken JH, Marijnen CA, van de Velde CJ, Nagtegaal ID. Lymph node retrieval in rectal cancer is dependent on many factors--the role of the tumor, the patient, the surgeon, the radiotherapist, and the pathologist. Am J Surg Pathol. 2009;33(10):1547-53.

38. Li Destri G, Di Carlo I, Scilletta R, Scilletta B, Puleo S. Colorectal cancer and lymph nodes: the obsession with the number 12. World J Gastroenterol. 2014;20(8):1951-60.

39. Idos GE, Kwok J, Bonthala N, Kysh L, Gruber SB, Qu C. The Prognostic Implications of Tumor Infiltrating Lymphocytes in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. Scientific Reports. 2020;10(1):3360.

40. Kinoshita T, Ito H, Miki C. Serum interleukin-6 level reflects the tumor proliferative activity in patients with colorectal carcinoma. Cancer. 1999;85(12):2526-31.

41. CHUNG Y-C, CHAEN Y-L, HSU C-P. Clinical Significance of Tissue Expression of Interleukin-6 in Colorectal Carcinoma. Anticancer Research. 2006;26(5B):3905-11.

42. Li J, Xu J, Yan X, Jin K, Li W, Zhang R. Targeting Interleukin-6 (IL-6) Sensitizes Anti-PD-L1 Treatment in a Colorectal Cancer Preclinical Model. Med Sci Monit. 2018;24:5501-8.

43. Gordziel C, Bratsch J, Moriggl R, Knösel T, Friedrich K. Both STAT1 and STAT3 are favourable prognostic determinants in colorectal carcinoma. Br J Cancer. 2013;109(1):138-46.

44. Kusaba T, Nakayama T, Yamazumi K, Yakata Y, Yoshizaki A, Nagayasu T, et al. Expression of p-STAT3 in human colorectal adenocarcinoma and adenoma; correlation with clinicopathological factors. J Clin Pathol. 2005;58(8):833-8.

45. Ji K, Zhang M, Chu Q, Gan Y, Ren H, Zhang L, et al. The Role of p-STAT3 as a Prognostic and Clinicopathological Marker in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One. 2016;11(8):e0160125.

46. Venderbosch S, van Lent-van Vliet S, de Haan AF, Ligtenberg MJ, Goossens M, Punt CJ, et al. EMAST is associated with a poor prognosis in microsatellite instable metastatic colorectal cancer. PLoS One. 2015;10(4):e0124538.

47. Lee SY, Chung H, Devaraj B, Iwaizumi M, Han HS, Hwang DY, et al. Microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats are associated with morphologies of colorectal neoplasias. Gastroenterology. 2010;139(5):1519-25.

48. Watson MM, Lea D, Hagland HR, Søreide K. Elevated Microsatellite Alterations at Selected Tetranucleotides (EMAST) Is Not Attributed to MSH3 Loss in Stage I-III Colon cancer: An Automated, Digitalized Assessment by Immunohistochemistry of Whole Slides and Hot Spots. Transl Oncol. 2019;12(12):1583-8.

49. Mori T, Hamaya Y, Uotani T, Yamade M, Iwaizumi M, Furuta T, et al. Prevalence of elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats in pancreatic ductal adenocarcinoma. PLoS One. 2018;13(12):e0208557.

50. Adam R, Spier I, Zhao B, Kloth M, Marquez J, Hinrichsen I, et al. Exome Sequencing Identifies Biallelic MSH3 Germline Mutations as a Recessive Subtype of Colorectal Adenomatous Polyposis. Am J Hum Genet. 2016;99(2):337-51.

8. ÖZET

Kolorektal Adenokarsinomlarda İmmünhistokimyasal Olarak Il-6 Ekspresyon Düzeyinin ve Il-6/Stat3/Hmsh3 Yolağının Değerlendirilmesi

Kolorektal kanser en yaygın gastrointestinal kanser türüdür ve yaşam tarzındaki değişiklikler nedeniyle ülkemizde ve dünya çapında görülme sıklığı artmaktadır. Çoğu herediter olmayan nedenlerle ortaya çıkan kolorektal kanserlerde inflamasyon etyolojide nadir; ancak önemli bir yere sahiptir. İnflamatuar bağırsak hastalığına sahip olmayan olgularda da etyolojide inflamasyonun rol alabileceğini gösteren literatür verileri mevcuttur. Proinflamatuar bir sitokin olan IL-6 karsinom gelişiminde, invazyonunda ve metastazlardaki potansiyel rolü nedeniyle araştırmaların odak noktasındadır.

Geçtiğimiz on yılda kolorektal karsinom patogenezi tek bir adenom-karsinom sekansı ile açıklanmak yerine benzer morfolojik, moleküler ve klinik özelliklerine göre sınıflandırılmakta ve patogenezde moleküler heterojenite ön plana çıkmaktadır. Bu moleküler alt gruplardan biri sıklıkla tümöre yüksek immün yanıt ile ilişkilendirilmekte ve bu alt grubun patogenezinden DNA yanlış eşleşme onarım (missmatch repair) gen ve proteinlerindeki kayıp ve sonucunda oluşan mikrosatellit instabilite sorumlu tutulmaktadır. Mikrosatellit instabilitenin daha yeni tanımlanmış bir formu da şeçili tetranükleotid tekrarlarında meydana gelmekte ve EMAST (Elevated Microsatellite Alterations at Selected Tetranucleotides) olarak adlandırılmaktadır. Tümörlerin EMAST pozitif

olmalarından sorumlu tutulan bir mekanizma da IL-6 aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu çalışmalar hücre kültürlerinde IL-6 ve oksidatif stresin EMAST pozitif tümörlere yol açabileceğini düşündürmüştür.

Bu çalışmada 171 sporadik olguda IL-6, STAT3 ekspresyonları ve IL-6/STAT3/MSH3 yolağının aktivasyonu araştırılmıştır. İnflamasyon ve IL-6'nın MSH3 ekspresyonunu azalttığına dair bir sonuç alınamamıştır. Ancak olguların %60,8'inin değişen yoğunluk ve yaygınlıklarda IL-6 eksprese ettiği görülmüştür. Tümörü infiltre eden lenfositlerin yoğunluğu ile MSH3 ekspresyonun azalması arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. MSH3 boyanmasının insan dokusunda değerlendirildiği geniş hasta sayısına sahip çalışmalardan biridir. Boyanma kaybı izlenen olguların mikrosatellit instabilite durumlarının değerlendirilebileceği yeni çalışmalara yön verebileceği, ayrıca gelecekte anti IL-6 tedavilerine uygun hasta seçimi açısından literatüre katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Mikrosatellit instabilite, MSH3, IL-6, EMAST

9.SUMMARY

Immunohıstochemıcal Evaluatıon Of Il-6 Expressıon Level And Il-6/Stat3/Hmsh3 Pathway In Colorectal Adenocarcınomas

Colorectal cancer is the most common type of gastrointestinal cancer, and its incidence is increasing worldwide due to changes in lifestyle. While only a minority of colorectal carcinomas develop due to hereditary causes, the majority are due to non-hereditary, environmental factors. Among these reasons, chronic inflammation has a rare but important place in etiology. Inflammation is thought to play a role in the pathogenesis of carcinoma in patients who do not have a clinical diagnosis of inflammatory bowel disease and show no symptoms.

In recent years, the pathogenesis of colorectal adenocarcinoma is classified according to similar morphological, molecular and clinical features. Instead of being explained with a single adenoma-carcinoma sequence, molecular heterogenity comes to the fore in pathogenesis. A form of microsatellite changes is “Elevated Microsatellite Alterations at Selected Tetranucleotide Repeats”-EMAST is reported in 60% of colon carcinomas and 33% of rectal carcinomas. There are studies showing that IL-6 and oxidative stress cause cytosolic shift of MSH3 and cause EMAST tumors. Some immunological and inflammatory responses are thought to play a role in the pathogenesis of EMAST tumors.

Although our cases frequently demonstrated increased expression of IL-6 and loss of MSH3 nuclear expression, it has not been proven that increased expression of IL-6 causes loss of nuclear staining of MSH3. Other mechanisms that could explain the loss of MSH3 can be considered here. MSH3 staining was found to be significantly less in patients with high immune response to the tumor compared to the other groups. Whether MSH3 can determine the EMAST status is controversial. If such a relationship is demonstrated, the loss of MSH3 in cases with high tumor infiltrating lymphocytes may contribute to the fact that we have shown that EMAST positive tumors have an excessive immune response. Also it is thought that determination of IL-6 expression by immunohistochemistry may be important in patient selection for anti-IL6 therapies in the future.

Keywords: Microsatellite instability, IL-6, MSH3, EMAST, microsatellite instability

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı :Elif

Soyadı : Kolay Bayram

Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara/ 25.08.1992

Eğitimi:

2017-Halen, Araştırma görevlisi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

2010-2016, Lisans, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi

2006-2010, Lise, Özel Arı Lisesi

2000-2006, İlköğrenim, Ted Ankara Koleji

Yabancı Dili **:** İngilizce, C1 Almanca, A1

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Ankara Patoloji Derneği, The European Society of Pathology

Bilimsel Etkinlikleri (aldığı burslar, ödüller, projeleri, yayınları)

Yayın

Demirci NY, Güleryüz M, Kolay E. Primary Cardiac Angiosarcoma Diagnosed From an Endobronchial Ultrasound (EBUS)-Guided Biopsy. Arch Bronconeumol (Engl Ed). 2018 Oct;54(10):524. English, Spanish. doi:10.1016/j.arbres.2018.03.005. Epub 2018 May 23. PMID: 29801677.

Turkyilmaz Z, Karabulut R, Kaya C, Gökce D, Kolay E, Sonmez K. Surgicel mimicking recurrent pelvic neuroblastoma in a 3-year-old boy. Acta Chir Belg. 2021 Feb 14:1-4. doi: 10.1080/00015458.2020.1846944. Epub ahead of print. PMID: 33534658.

Burs

- 30. Ulusal Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği, 2021, çevrimiçi

- 32. Avrupa Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği, 2020, çevrimiçi

- 29. Ulusal Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği, 2019, Trabzon, Türkiye

- 30. Avrupa Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği, 2018, Bilbao, İspanya

Sözlü sunum

- “Merkel hücreli karsinomların klinik ve histopatolojik özellikleri", 2021, çevrimiçi, Türkiye

- 'Çocuklarda böbrek iğne biyopsilerinin klinikopatolojik bulguları: Üçüncü basamak tek merkez deneyimi', 2021, çevrimiçi, Türkiye

- “Demographic and pathological characteristics of medulloblastoma: single center experience”, 2018, Bilbao, İspanya

Poster

Negative conversion of biomarkers in liver metastatic breast cancer: A single center study, Avrupa Patoloji Kongresi, 2020, çevrimiçi

A rare malignancy of perianal region: Case report and review of the literature, Avrupa Patoloji Kongresi, 2020, çevrimiçi

Reactive lymphoid hyperplasia of the liver with granuloma formation: A case report, Avrupa Patoloji Kongresi, 2020, çevrimiçi

Overde klinik olarak maligniteyi taklit eden polipoid endometriozis: Olgu sunumu, 2019, Trabzon, Türkiye

"Periosteal kondrom: Ayırıcı tanı zorluğu oluşturan nadir bir kıkırdak lezyonu", 2018, Ankara, Türkiye

Katılım belgeleri

- 32nd Congress of the ESP

- 30th European Congress of Pathology

- Diagnostic Challenges in Soft Tissue and Bone Pathology, USCAP (çevrimiçi)

- Hematopathology, Potpourri of Unusual Hematopoietic Tissue Infiltrates,

USCAP (çevrimiçi)

- Hematopathology, Potpourri of Unusual Hematopoietic Tissue Infiltrates, USCAP (çevrimiçi)

- SPSS Uygulamalı Temel İstatistik Eğitimi, uzaktan eğitim

- Lenf Nodu Patolojisi Kursu, 2020

- 29. Ulusal Patoloji Kongresi

- 28. Ulusal Patoloji Kongresi

- Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi

- Kurs-İnteraktif Sitoloji, 2017

- Olgularla Nefropatoloji Kursu, 2017