



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**PANKREAS DUKTAL ADENOKARSİNOMLARINDA
STROMAL KOMPONENTE YÖNELİK UYGULANAN
İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLERİN PROGNOZ VE
TEDAVİDEKİ YERİ**

Dr. Gamze AKBAŞ

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2018



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**PANKREAS DUKTAL ADENOKARSİNOMLARINDA
STROMAL KOMPONENTE YÖNELİK UYGULANAN
İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLERİN PROGNOZ VE
TEDAVİDEKİ YERİ**

Dr. Gamze AKBAŞ

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Pelin Bağcı

İSTANBUL 2018

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimimin başından itibaren bana patolojiyi öncelikle sevdiren, yaptığımız işin sorumluluğunun önemini anlamama yardımcı olan, her zaman bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım başta tez danışmanım Doç. Dr. Pelin Bağcı olmak üzere değerli hocalarım Prof. Dr. Funda Eren, Prof. Dr. Çiğdem Ataizi Çelikel, Prof. Dr. Rengin Ahıskalı, Prof. Dr. Handan Kaya, Prof. Dr. Leyla Cinel, Doç. Dr. Süheyla Uyar Bozkurt, Doç. Dr. Kemal Türköz, Doç. Dr. Deniz Filinte, Yard. Doç. Dr. Emine Bozkurtlar ve Yard. Doç. Dr. İpek Erbarut Seven'e;

Asistanlığım boyunca bir arada olmaktan çok şanslı ve mutlu hissettiğim asistan arkadaşlarım Dr. Gökçe Aşkan, Dr. Gülçiçek Ayrancı, Dr. Dilek Kaymakçı, Dr. Hande Mollamemişoğlu, Dr. Fatma Gerin, Dr. Erdem Kombak, Dr. Hasan Toper, Dr. Hülya Şahin Özkan, Dr. İrem Şahver İşgör, Dr. Yiğit Erçetin, Dr. Medine Özgür Günay, Dr. Tuğba Oğuzsoy ve Dr. Beyza Keskin'e ve tezimde emeği geçen tüm laboratuvar ekibine;

Hep yanımda olan, sevgilerini ve desteklerini daima hissettiğim sevgili annem, babam, kardeşim, eşim, oğlum ve tüm aileme sonsuz teşekkürlerimle...

Gamze Akbaş

Mart 2018

İstanbul

ÖZET

Amaç: Rezeksiyonla pankreatik duktal adenokarsinom (PDAK) tanısı koyulmuş olgularda, stromal komponente yönelik olarak uygulanan immünohistokimyasal belirteçlerin (SPARC, Galektin-1, VEGF, SMA, Kollajen Tip IV) birbirleriyle ve histopatolojik parametrelerle ilişkisini değerlendirmek; tüm bu parametrelerin prognozu belirlemedeki rolünü araştırmak ve varsa tedaviyle ilişkilerini gösterebilmektir.

Gereç ve Yöntem: 2011-2016 yılları arasında pankreas rezeksiyonu yapılan, retrospektif olarak incelenen 76 PDAK olgusuna SMA, Kollajen Tip IV, SPARC, VEGF ve Galektin-1 immünohistokimya boyaları uygulandı. İmmünohistokimya sonuçları semikantitatif olarak değerlendirilerek istatistiksel analiz yapıldı.

Bulgular: Ortalama sağkalım 17,91 aydır. Erkek cinsiyet, yüksek grade ve cerrahi sınır pozitifliği bağımsız kötü prognostik faktör olarak bulundu. Perinöral invazyon sağkalıma anlamlı şekilde etki etmektedir. SMA ve anjiyoinvazyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu. Galektin 1 ekspresyonu fazla olan vakaların sağkalımı istatistiksel olarak anlamlı şekilde iyidir ve evreden bağımsızdır. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da, Kollajen Tip IV ekspresyonu fazla olan vakalar evreden bağımsız daha iyi prognozlu bulunmuştur. İstatistiksel olarak hesaplanamasa da, adjuvan olarak gemcitabin alan hastalardan SPARC ekspresyonu fazla olanların prognozu daha iyidir.

Sonuç: Pankreatik duktal adenokarsinom kansere bağlı ölümlerin en sık 4. nedenidir. Bunun en önemli nedenlerinden biri geç semptom vermesi ve tanı anında tümörlerin yalnızca %10'unun opere edilebilir olmasıdır. Diğer bir nedeni ise; şu anda kullanılan geleneksel kemoterapi protokollerine dirençli olmasıdır. Bu nedenle hedefe yönelik yeni tedavi ajanları ve yöntemlerine ihtiyaç vardır.

Bulgularımız stromanın tümörü sınırlamaya çalıştığı yönündedir. Stromanın tümörü uyarıcı ve indükleyici özelliğini vurgulayan ve gösteren birçok invitro çalışma olmasına karşın, klinik araştırmalarda sonuç elde edilememesi ve birbirine zıt hipotezlerin geliştirilmiş olması nedeniyle, bulgularımız stromal hedefe yönelik tedavi rejimleri geliştirilirken daha dikkatli olunması gerektiğini vurgulamaktadır.

Anahtar kelimeler: Pankreas duktal adenokarsinom, stroma, SMA, SPARC, Kollajen Tip IV, Galektin-1

İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

Objective: Our aim is to evaluate the relationship between stromal expression of immunohistochemical markers (SPARC, Galectin-1, VEGF, SMA, Collagen Type IV) and histopathological parameters of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) , to investigate the role of these parameters predicting the prognosis, and to show their relationship with response to therapy, if any.

Material and Method: Seventy-six resection specimens diagnosed as PDAC, between 2011-2016 were included in our study. Sections from selected tumor blocks were stained immunohistochemically using; SMA, Collagen Type IV, SPARC, VEGF and Galectin-1 antibodies. Statistical analysis was performed over the semiquantitative results of immunohistochemistry.

Findings: The mean survival was 17.91 months. Male gender, high grade, and surgical margin positivity were found as independent poor prognostic factors. Perineural invasion has a significant effect on survival. There was a statistically significant correlation between high SMA expression, and presence of angioinvasion. Cases with high Galectin-1 immunoreactivity had an independent and statistically significant effect over survival. Although not statistically significant, Collagen Type IV high-reactive cases were found to have better prognosis, independent of the pathological stage. The prognosis of SPARC overexpressed cases was better in patients receiving adjuvant gemcitabine, although statistical analysis was not applicable.

Conclusion: Pancreatic ductal adenocarcinoma is the 4th most common cause of cancer-related deaths. One of the most important reasons for this is late symptomatic onset and only 10% of the tumors are operable at the time of diagnosis. Another reason; is its' resistance to current conventional chemotherapy protocols. Therefore, new targeted therapeutic agents and methods are required.

Our findings suggest that, the stroma is trying to control and limit the spread of the tumor. Although there are many studies demonstrating the tumor stimulating character of the stroma, our findings emphasize that careful attention should be given to the development of stromal targeted treatment regimens, as clinical results have not been achieved in clinical trials yet , and many contradictory hypotheses have been developed.

Keywords: pancreas ductal adenocarcinoma, stroma, SMA, SPARC, Collagen Type IV, Galectin-1

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Pankreasın Embriyolojisi	2
2.2. Pankreasın Anatomisi.....	3
2.3. Pankreasın Histolojisi	5
2.4. Pankreatik Duktal Adenokarsinom.....	10
2.4.1. Etyopatogenez ve Klinikoradyolojik Bulgular	11
2.4.2. Pankreatik Duktal Adenokarsinomun Moleküler Patogenezi	11
2.4.3. Pankreatik Duktal Adenokarsinom (PDAK) 'un Prekürsör Lezyonları	12
2.4.4. Pankreatik Duktal Adenokarsinomda Klinik Değerlendirme	13
2.4.5. Tedavi ve Sağkalım.....	14
2.4.6. Patolojik Evreleme.....	15
2.4.7. Histopatolojik Bulgular	16
2.5. Stroma ve pankreatik duktal adenokarsinom	19
2.5.1. Pankreatik Yıldızsı Hücre	20
2.5.2. SPARC/Osteonektin (sisteinden zengin ve asidik sentezlenmiş protein = Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine).....	22
2.5.3. Galektin-1	23
2.5.4. Kollajen Tip IV	24
2.5.5. VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü = Vascular Endothelial Growth Factor).....	24
2.5.6. Pankreas duktal adenokarsinom stroması ile ilgili kısıtlılıklar	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Olgu Seçimi.....	26
3.2. Etik Kurul	26
3.3. Klinik Veriler	26
3.4. Histopatolojik Veriler	26
3.5. İmmünohistokimya (IHK)	27
3.5.1. İmmünohistokimya Uygulama Yöntemi.....	27
3.5.2. İmmünohistokimya İmmünekspresyon Değerlendirilmesi	28
3.6. İstatistik	30
4. BULGULAR	31
4.1. Demografik Bulgular	31

4.2. Klinikopatolojik Bulgular	32
4.2.1. Klinik Bulgular	32
4.2.2. Patolojik Bulgular (Tablo 6)	33
4.3. İmmünohistokimya (İHK) Bulguları	36
4.3.1. SMA (α -Smooth muscle Actin) İmmünohistokimya Bulguları	37
4.3.2. Kollajen Tip 4 İmmünohistokimya Bulguları	38
4.3.3. SPARC İmmünohistokimya Bulguları	40
4.3.4. VEGF İmmünohistokimya Bulguları	41
4.3.5. Galektin 1 İmmünohistokimya Bulguları	44
4.4. Demografik , Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulguların Toplam Sağkalım ile İlişkisi	47
4.5. SMA İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi	52
4.6. Kollajen 4 İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi	53
4.7. SPARC (tümör) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi	54
4.8. SPARC (stroma) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi	55
4.9. VEGF (tümör) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi	56
4.10. VEGF (stroma) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi	57
4.11. Galektin-1 (tümör) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi	58
4.12. Galektin-1 (stroma) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi	60
4.13. İmmünohistokimya Belirteçlerinin Klinikopatolojik Parametrelerle Sağkalım Üzerine Çok Değişkenli Analizi	61
4.14. Yaşam Süresi ve Sağkalım Üzerine Etki Eden Faktörlerin Çok Değişkenli Analizde Değerlendirilmesi	65
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇLAR	74
7. KAYNAKLAR	75

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. PDAK patolojik evreleme (AJCC 2017)	15
Tablo 2. Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçler	28
Tablo 3. SMA ve Kollajen IV için stroma immünoekspresyon skorlaması.....	29
Tablo 4. Anti-osteonektin, Anti-VEGF ve Galektin-1'in stroma ve tümördeki immünoekspresyon skorlaması	30
Tablo 5. Demografik Bulguların Dağılımı	31
Tablo 6. Patolojik Bulgular	35
Tablo 7. İmmünohistokimya Bulguları	36
Tablo 8. Demografik , Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulguların Toplam Sağkalım ile ilişkisi	47
Tablo 9. SMA'nın diğer parametrelerle ilişkisi.....	52
Tablo 10. Kollajen 4'ün diğer parametrelerle ilişkisi.....	53
Tablo 11. SPARC(tümör)'in diğer parametrelerle ilişkisi	54
Tablo 12. SPARC(stroma)'in diğer parametrelerle ilişkisi.....	55
Tablo 13. VEGF(tümör)'nin diğer parametrelerle ilişkisi.....	56
Tablo 14. VEGF(stroma)'nin diğer parametrelerle ilişkisi	57
Tablo 15. Galektin-1 (tümör)'in diğer parametrelerle ilişkisi.....	58
Tablo 16. Galektin-1 (stroma)'in diğer parametrelerle ilişkisi.....	60
Tablo 17. Yaşam süresi ve sağkalım üzerine T-evreleri ve immünohistokimya boyalarının etkisinin incelenmesi	61
Tablo 18. Yaşam süresi ve sağkalım üzerine N-evreleri ve immünohistokimya boyamalarının etkisinin incelenmesi	62
Tablo 19. Yaşam süresi ve sağkalım üzerine AJCC 2017 T ve N evreleri ve Galektin 1 stroma boyasının etkisinin incelenmesi	62
Tablo 20. Yaşam süresi ve sağkalım üzerine cerrahi sınır ve immünohistokimya boyamalarının etkisinin incelenmesi	63
Tablo 21: Yaşam süresi ve sağkalım üzerine lenfatik invazyon ve immünohistokimya boyamalarının etkisinin incelenmesi	64
Tablo 22: Sağkalım üzerine etki eden faktörlerin çok değişkenli analizi	65

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Pankreas ventral-dorsal tomurcukların oluşumu.....	2
Şekil 2. Ventral-dorsal pankreatik tomurcukların birleşimi.....	3
Şekil 3. Pankreasın anatomik yerleşimi ve kısımları	4
Şekil 4. Pankreatik duktal sistem	5
Şekil 5. Pankreas genel histolojisi.....	6
Şekil 6: Asiner hücrelerde tripsin immünekspresyonu.....	7
Şekil 7. Pankreas duktal asiner yapısı	8
Şekil 8. Normal pankreasta MUC ekspresyonları	9
Şekil 9. Pankreatik yıldızsı hücre	10
Şekil 10. A,B: Düşük dereceli PanİN.....	13
Şekil 11. “Foamy” köpüksü gland paterni	17
Şekil 12. Büyük duktus paterni	17
Şekil 13. A: Perinöral invazyon B: Sharma bulgusu (izole duktus fenomeni)	18
Şekil 14. PDAK, yaygın desmoplastik stroma, nukleus boyut farklılıkları	18
Şekil 15. PDAK hücreleri ve stromal hücreler arası etkileşim döngüsü	20
Şekil 16. Cinsiyet oranlarının dağılımı	31
Şekil 17. Mortalite oranlarının dağılımı	32
Şekil 18. Stromal paternler.....	34
Şekil 19. SMA İHK boyanma dağılımları.....	37
Şekil 20. A: Kronik pankreatit SMA boyanması B: Lenf nodu metastazı SMA Boyanması .	38
Şekil 21. Kollajen 4 İHK boyanma dağılımları.....	39
Şekil 22. A: Kollajen 4 çevre pankreas, B: Kollajen 4 PanİN çevresi	40
Şekil 23. SPARC İHK boyanma dağılımları (Tümör)	40
Şekil 24. SPARC İHK boyanma dağılımları (Stroma)	41
Şekil 25. VEGF İHK boyanma dağılımları (Tümör)	42
Şekil 26. VEGF İHK boyanma dağılımları (Stroma)	43
Şekil 27. A: Selüler tümör stromasında tümörden daha yoğun VEGF boyanması B: Çevre asiner yapılarda kuvvetli boyanma	44
Şekil 28. Galektin-1 İHK boyanma dağılımları (Tümör).....	45
Şekil 29. Galektin-1 İHK boyanma dağılımları (Stroma)	46
Şekil 30. Cinsiyete göre yaşam süresi ve sağkalım oranları	48
Şekil 31. Grade’e göre yaşam süresi ve sağkalım oranları.....	49
Şekil 32. Cerrahi sınıra göre yaşam süresi ve sağkalım oranları.....	49
Şekil 33. Perinöral invazyona göre yaşam süresi ve sağkalım oranları	50

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

AJCC: *American Joint Committee on Cancer*

CK: Sitokeratin

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EMD: Epitelyal mezankimal dönüşüm

ESM: Ekstraselüler matriks

FGF: Fibroblast büyüme faktörü (*Fibroblast growth factor*)

GFAP: Glial fibriler asidik protein

IL: İnterlökin

İPMN: İntraduktal papiller müsinöz neoplazi

MKN: Müsinöz kistik neoplazi

MMP: Matriks metalloproteinaz

MUC: Müsin

NSE: Nöron spesifik enolaz

PanİN: Pankreatik inraepitelyal neoplazi

PDAK: Pankreatik duktal adenokarsinom

PYH: Pankreatik yıldızsı hücre

SMA: Düz kas aktini (*Smooth muscle actin*)

SPARC: Sisteinden zengin ve asidik sentezlenmiş protein (*Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine*)

TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü (*Transforming growth factor*)

TNF: Tümör nekroz faktörü (*Tumor necrosis factor*)

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü (*Vascular endothelial growth factor*)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreatik duktal adenokarsinom (PDAK) kansere bağılı ölümlerin en sık 4. nedenidir. Bunun en önemli nedenlerinden biri geç semptom vermesi ve tanı anında tümörlerin yalnızca %10'unun opere edilebilir olmasıdır. Diğer bir nedeni ise; şu anda kullanılan geleneksel kemoterapi protokollerine dirençli olmasıdır. Bu nedenle hedefe yönelik yeni tedavi ajanları ve yöntemlerine ihtiyaç vardır.

Pankreas kanserinde stroma tümör kitlesinin %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır. Stromal komponentler arasında inflamatuvar hücreler, fibroblastlar, kök hücreler, pankreatik yıldızlı hücreler, ekstraselüler matriks elemanları ve vasküler yapılar yer almaktadır. Son yıllarda stromal elemanlara yönelik tedavi rejimleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Pankreatik yıldızlı hücreler bu çalışmaların temel hedefi halindedir. Literatürde bu konu ile ilgili klinik (onkoloji, cerrahi) ve preklinik (biyokimya, farmakoloji) çalışmalar olmasına karşın, bu çalışmalar arasındaki boşlukları tamamlamayı nitelikte olan histopatolojik incelemelere dayalı yayınlar son derece azdır. Büyük oranda hücre kültürleriyle yapılmış olan çalışmaların, dokuda yapılan çalışmalarla aynı sonuçları vermemesi, hatta bazı çalışmalarda tam tersi sonuçlar elde edilmesi ve bu nedenle faz I-II çalışmaların büyük kısmının faz III çalışma haline getirilememesi ve de tümörün terapiye direncinin henüz çözülememiş olması PDAK stromasını mikroskop altında çok daha detaylı inceleme gereği doğurmaktadır.

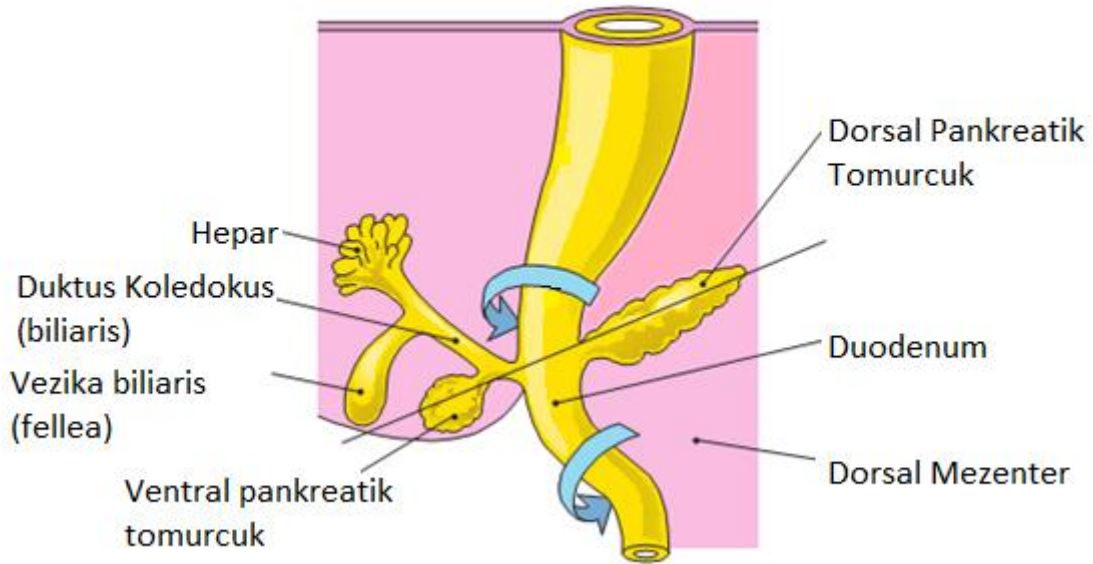
Çalışmamızın amacı; bölümümüzde rezeksiyonla PDAK tanısı koyulmuş olgularda, stromal komponente yönelik olarak uygulanan immünohistokimyasal belirteçlerin (SPARC, Galektin-1, VEGF, SMA, Kollajen Tip IV) birbirleriyle ve histopatolojik parametrelerle ilişkisini değerlendirmek; tüm bu parametrelerin prognozu belirlemedeki rolünü araştırmak ve varsa tedaviyle ilişkilerini gösterebilmektir.

PDAK'un stromal komponentlerine yönelik immünohistokimyasal belirteçlerden SMA literatürde çalışmalarda en çok kullanılan ve hemen hemen her yayında karşımıza çıkan immün belirteç olduğu için kıyaslama amacıyla çalışmaya dahil edilmiştir. Son yıllarda hedefe yönelik tedavi yöntemleri geliştirilmeye çalışılırken en sık başvuru alan immün belirteçlerden tedavi göstergesi olduğu düşünülen SPARC ve VEGF de çalışmaya dahil edilmiştir. Yine son yıllarda prognostik gösterge olarak önem ve dikkat arzetmeye başlayan, ancak patoloji bazlı araştırmaların az olduğu Galektin-1 belirteci de çalışmamıza dahil edilmiştir. Bazal membran belirteci olan ve antianjiyogenik özelliği bulunan ancak patolojik mikroskopik analizi hiç yapılmamış olan Kollajen Tip IV'ün PDAK'lardaki ekspresyon paterni ve prognoza etkisi de bizde merak uyandırdığından çalışma kapsamına dahil edilmiştir.

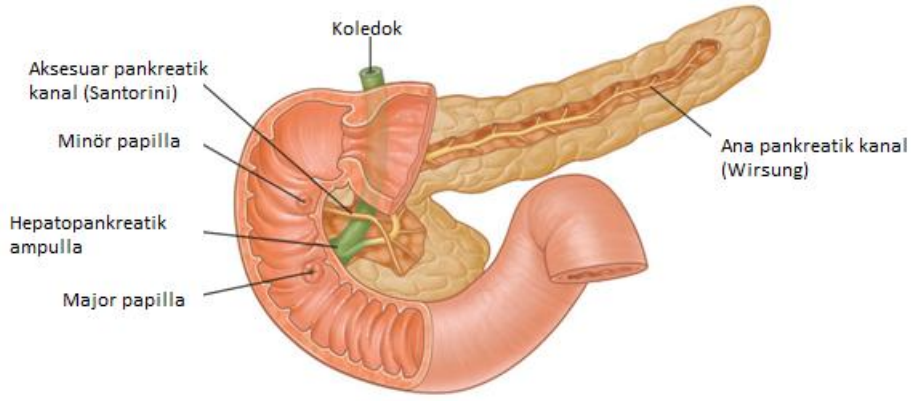
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pankreasın Embriyolojisi

Pankreasın ventral ve dorsal tomurcukları, ön barsak endoderminden, 28. Günde, duodenum seviyesinde, ilkel karaciğer ve safra kesesi inferiorunda gelişirler (**Şekil-1**). İntrauterin 6-7. haftada ventral tomurcuk dorsale ilerleyerek dorsal pankreatik tomurcuk ile birleşir. Ventral tomurcuk başın bir kısmı ve unsinat prosesi oluştururken ; dorsal tomurcuk kuyruk, gövde , başın anterior kısmını meydana getirir (**Şekil-2**) . Ana pankreatik duktus (Wirsung) kuyruk ve gövdedeki dorsal duktus ile ventral duktusun duodenuma yakın segmentinin birleşiminden oluşur ve major papillaya açılır. Aksesuar duktus (Santorini) dorsal pankreatik duktusun proksimal segmentinin minor papillaya açılmasıyla oluşur. Bazı durumlarda dorsal pankreatik duktus ventral pankreatik duktus ile birleşmez ve “pankreas divisum” anomali gelişir (1, 2).



Şekil 1. Pankreas ventral-dorsal tomurcukların oluşumu

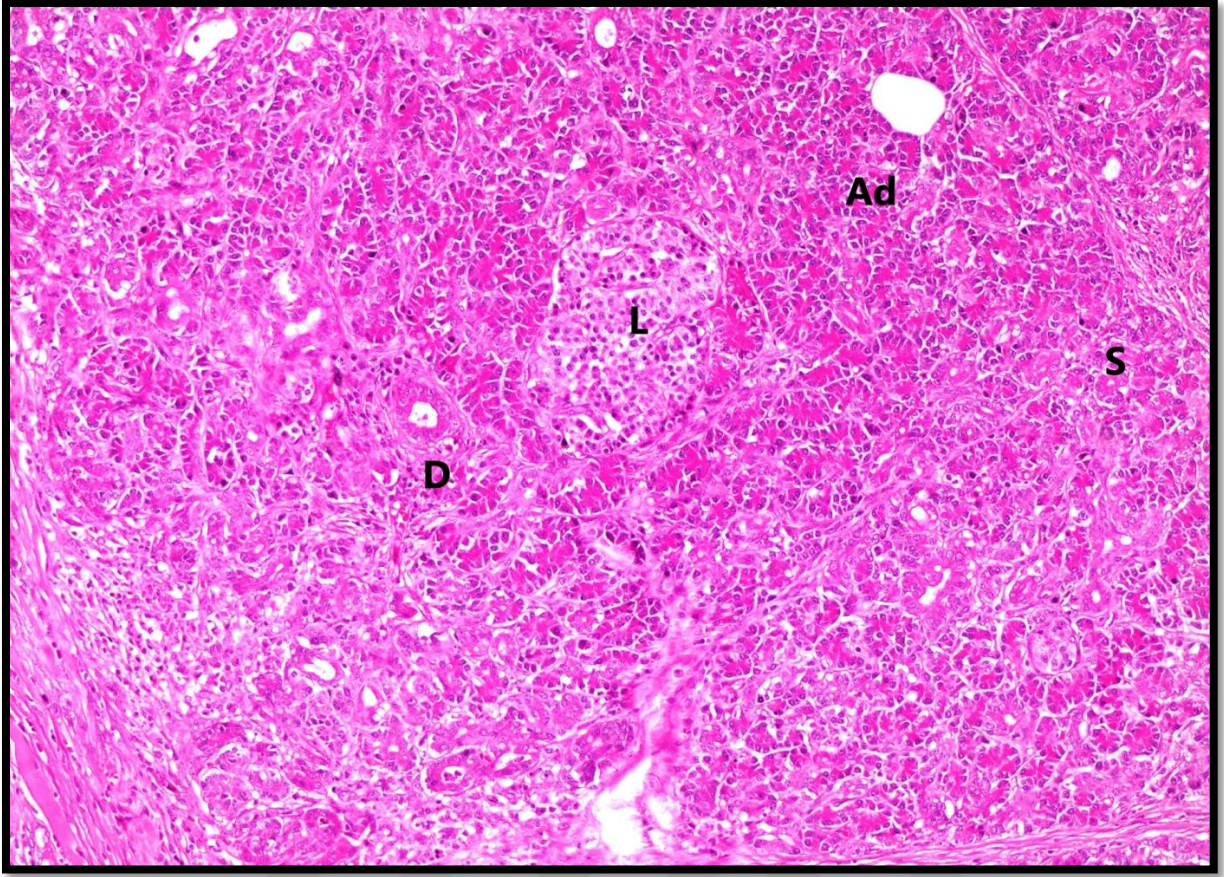


Şekil 4. Pankreatik duktal sistem

Pankreasın arteriyel kanlanması çölyak trunkus ve süperior mezenterik arterden sağlanır. Venöz drenajı portal vene dökülür. Duodenum ve pankreas başınının lenfatik drenajı ortaktır. Paraaortik lenf nodlarının çölyak ve superior mezenterik gruplarına dökülürler. Gövdenin lenfatik drenajı pankreatosplenik lenf nodlarına, kuyruk kısmının ise splenik lenf nodlarına dökülür. Pankreasın sempatik innervasyonu splanknik sinirlerden parasempatik innervasyonu vagustan sağlanır (3).

2.3. Pankreasın Histolojisi

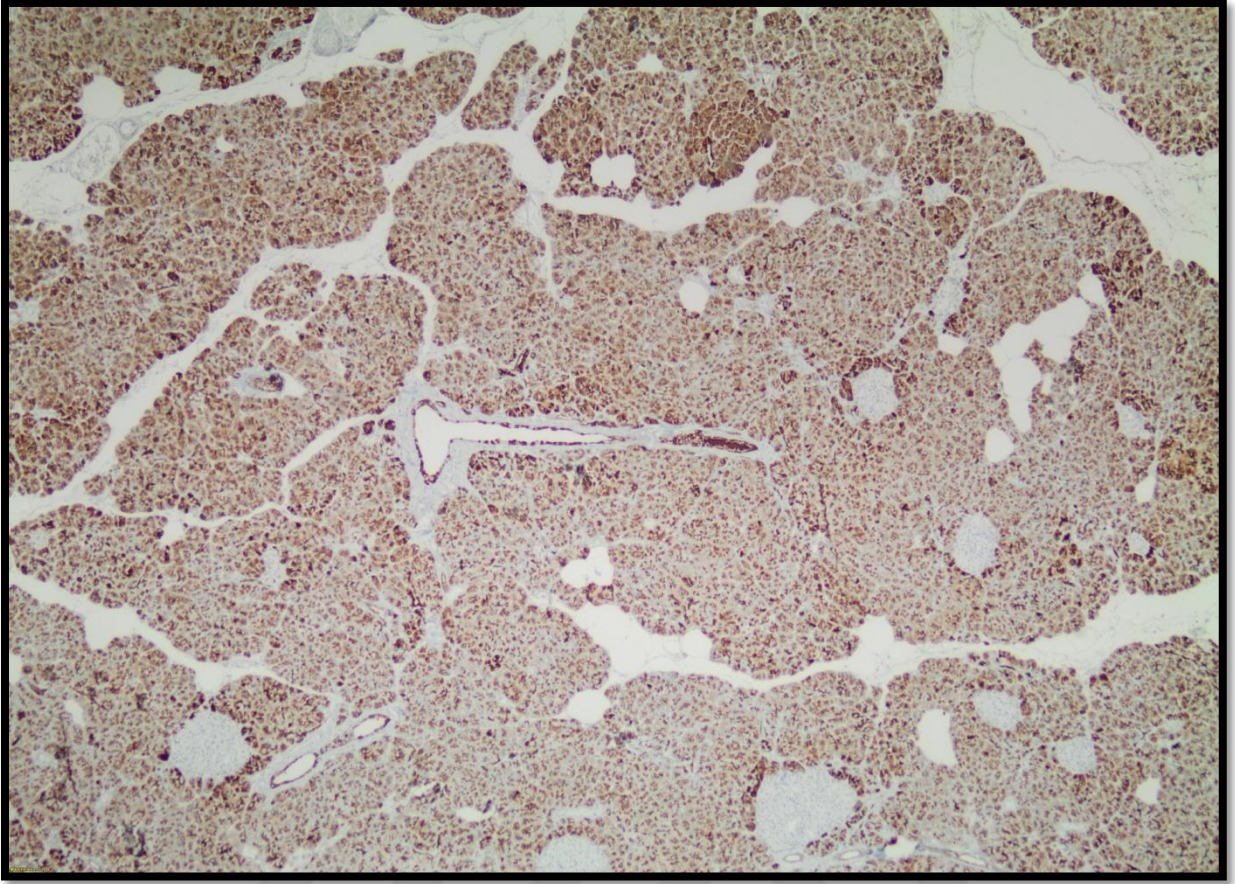
Mikroskopik olarak pankreas 1-10 mm'lik lobüllere ayrılmıştır. Lobül içindeki parankim asinus, duktus ve Langerhans adacıklarından oluşmaktadır. İntralobüler konnektif doku çok azken lobuller arasındaki kompartman daha çok fibrokonnektif dokudan oluşmaktadır (Şekil 5) (5) .



Şekil 5. Pankreas genel histolojisi (MÜTF B-3741-16, H&E, 100x)

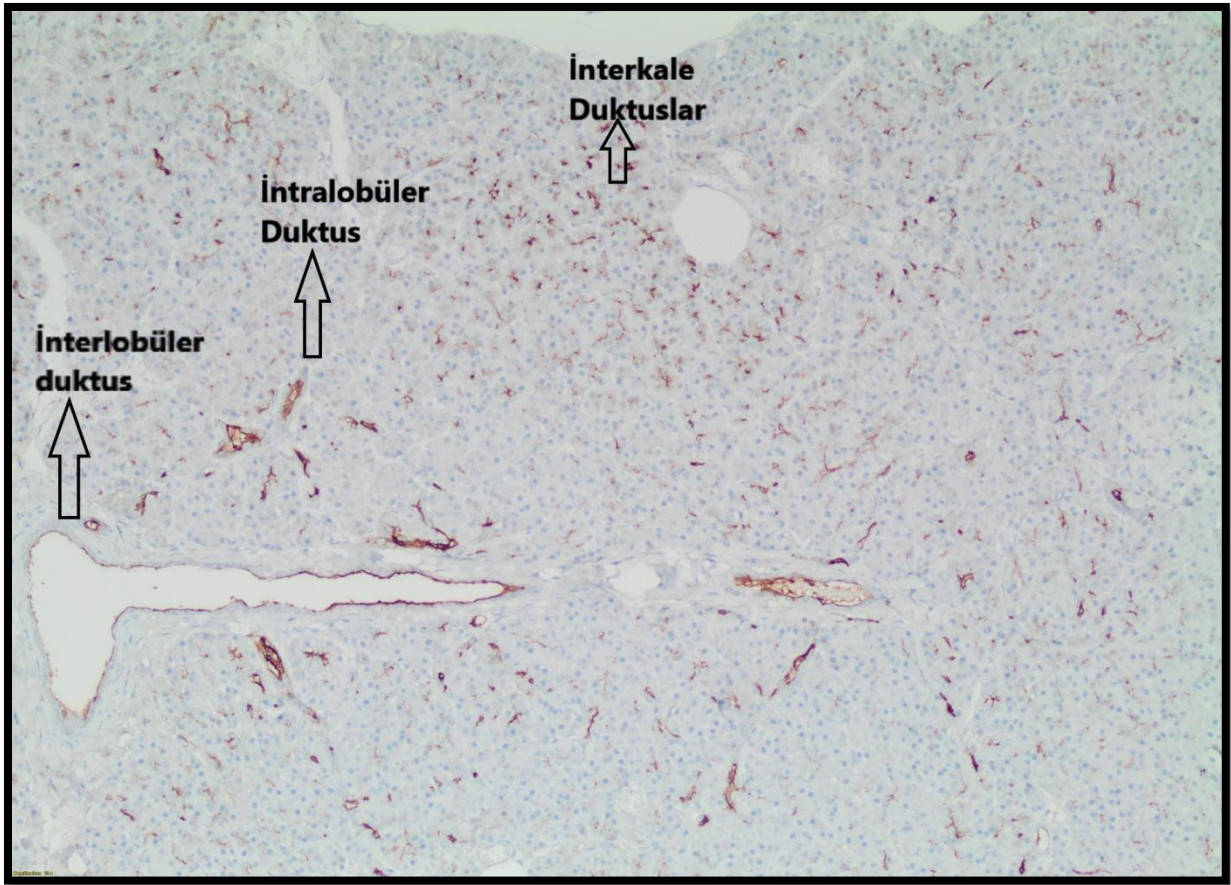
D: İnterlobüler duktus, Ad: Adiposit, L: Langerhans adası, S: Septa

Asiner hücreler pankreas kütlesinin %85'ini oluşturur ve organın ana ekzokrin sekretuar kısmıdır. Asinusun arkitektürel dizilimi santral bir lümen etrafında dizilmiş tek sıra poligonal hücreler şeklindedir. Asiner hücreler, bazalde bazofilik, apikalde eozinofilik görünür. Bunun nedeni apikaldeki zimojen granülleri ve bazaldeki endoplazmik retikulumun fazlalığıdır. Nükleus bazalde yerleşik, uniform, santral belirgin nükleollüdür. Hücreler direkt olarak bazal membrana oturur, pankreatik asinusun çevresinde miyoepitelyal hücre bulunmaz (**Şekil 5**). Asiner hücreler immünohistokimyasal olarak amilaz, tripsin (**Şekil 6**), kimotripsin, lipaz, CK8 ve CK18 eksprese ederler.



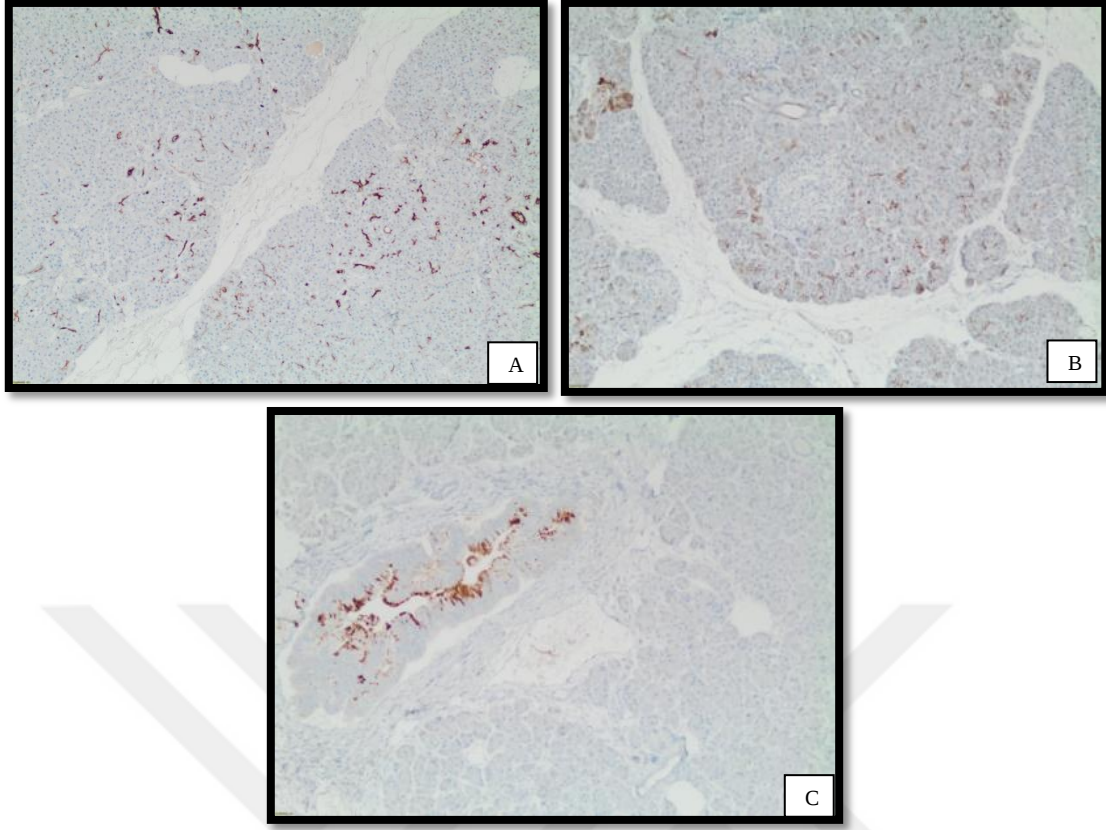
Şekil 6: Asiner hücrelerde tripsin immünekspresyonu (40x)

Pankreasın duktus sistemi asiner hücre sekresyonlarını duodenuma ileten 5 segmentten oluşur: Sentroasiner hücreler, interkaler duktuslar, intralobuler duktuslar, interlobuler duktuslar (büyük ve küçük) ve ana pankreatik duktus. Duktus sistemi asinusun ortasında yer alan yassı veya küboidal soluk veya açık eozinofilik sitoplazmalı, santralde yerleşik oval nukleuslu sentroasiner hücrelerden başlar. Sentroasiner hücreler asinuslar dışındaki en küçük duktus olan interkaler duktuslara dökülür. İnterkaler duktusların hücreleri sentroasiner hücrelere benzer. İnterkaler duktuslar da belirsiz bir geçişle intralobüler duktuslara dökülür. İnterkaler ve intralobuler duktusların çevresinde belirgin bir kollajen matriks, bazal membran veya miyoepitelyal hücre bulunmaz. Duktuslar lobüllerden çıkarken etraflarında kalın kollajen demetler birikmeye başlar ve interlobüler duktuslar oluşur. İnterlobüler duktusların hücreleri daha geniş sitoplazmalı kolumnar hücrelerdir (Şekil 7) (5).



Şekil 7. Pankreas duktal asiner yapısı (MUC1 İmmünohistokimya, 100x)

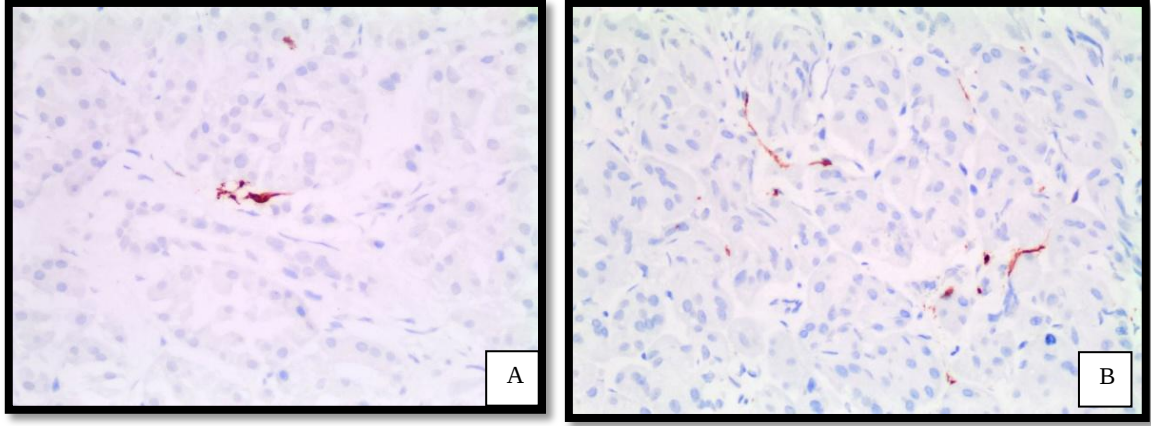
Duktal hücreler immünohistokimyasal olarak sitokeratin (CK) 7,8,18,19 ile boyanırken CK20 ile boyanma saptanmaz. Birçok epitelyal hücreden sentezlenen, yüksek molekül ağırlıklı glikoprotein ailesinden olan ve hücrelerin müsin sentezleme özelliklerini gösteren MUC boyalarının normal pankreastaki boyanma şekillerine bakılacak olursa MUC1 intralobüler ve interkaler duktuslarda eksprese olurken (**Şekil 7**) , MUC6 interkaler duktus ve sentroasiner hücrelerde eksprese olur. MUC2 ve MUC5AC normal olan duktal hücrelerde eksprese olmaz (**Şekil 8**) .



Şekil 8. Normal pankreasta MUC ekspresyonları A: MUC1; B: MUC6; C: MUC5AC (Düşük dereceli PanİN odağında boyanma izlenmektedir) (100x)

Pankreas parankiminin endokrin komponentini teşkil eden Langerhans adaları erişkinlerde pankreas kütlesinin yalnızca %1-2' sini oluşturur. Her bir lobülde ortalama 1-2 adet bulunurlar. Soluk amfofilik sitoplazmalı, uniform, yuvarlak nükleuslu, kaba kromatinli hücre gruplarından oluşurlar. Bu hücre grupları immünohistokimyasal olarak sinaptofizin, kromogranin, NSE, CD56, insülin, glukagon, somatostatin ve pankreatik polipeptit (PP) ile boyanırlar.

Normal erişkin pankreasında lobüller arasında çok az miktarda konnektif doku bulunur, lobül içinde ise hiç bulunmaz. Konnektif doku içinde kapiller ağ ve sinir uçları bulunur. Normal pankreasta bir miktar adipozit bulunur. Yeni yapılan çalışmalarda pankreasta vitamin A depolayan fibroblast benzeri stromal hücreler (stellat/yıldız hücre) tanımlanmıştır. Bu hücreler morfolojik ve biyolojik olarak hepatik stellat (İto) hücrelerine benzer ve kronik pankreatit sırasında meydana gelen fibroziste ekstraselüler matriks elemanlarını yapmaktan sorumludur (**Şekil 9**). Yeni tanımlanan bir diğer stromal hücre ise, diğer gastrointestinal organlarda da bulunan interstisyel Cajal hücreleridir (6) .



Şekil 9. Pankreatik yıldızlı hücre **A:** Desmin; **B:** GFAP (200x)

2.4. Pankreatik Duktal Adenokarsinom

Pankreatik kanser, birçok kanser türünde olduğu gibi hem ailesel hem de sporadik olarak ortaya çıkan, genetik ve epigenetik değişikliklerin bir araya gelmesi sonucu görülen klinik bir tablodur. Çoğu ekzokrin pankreas karsinomu, duktal hücre fenotipi gösteren neoplazmlar sınıfına girer ve bu nedenle “pankreatik duktal adenokarsinom (PDAK)” olarak adlandırılır. “Pankreas kanseri”, “pankreas karsinomu” veya “pankreas adenokarsinomu”ndan bahsedildiğinde, aslında kastedilen bu tümör ve varyantlarıdır. PDAK’ların çoğunda saptanan tübüler/duktal patern ve duktal biliyer hücre tipi tümörün duktal orijinli olduğunu düşündüren sebeplerdendir.

İnvaziv duktal karsinomun Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2010 sınıflamasına göre tiplendirmesi aşağıdaki gibidir (7) :

- İnvaziv Duktal Adenokarsinom
 - Tübüler (konvansiyonel) adenokarsinom
 - Kolloidal (müsinöz nonkistik) karsinom
 - Medüller karsinom
 - Adenoskuamoz karsinom
 - Taşlı yüzük hücreli karsinom
 - Hepatoid karsinom
 - Andiferansiye karsinom
 - Anaplastik (dev hücreli) karsinom
 - Sarkomatoid karsinom
 - Karsinosarkom
 - Osteoklast benzeri dev hücreler içeren andiferansiye karsinom
 - Mikst adenonöroendokrin karsinom (MANEK) / (Mikst nöroendokrin-nöroendokrin neoplazm (MİNEN) (Endokrin Tümörler DSÖ 2017’ ye göre))

2.4.1. Etyopatogenez ve Klinikoradyolojik Bulgular

İnvaziv duktal adenokarsinom pankreas tümörleri içinde en sık görülen ve tüm kanserler içinde en ölümcül olan kanser tiplerindendir. Pankreas kanseri, kansere bağlı ölüm nedenleri arasında 4. sırada yer alır (9). Amerika’da 2016 yılı kanser istatistiklerine göre 53,070 yeni pankreas kanseri vakası ve 41,780 pankreas kanseri nedeni ölüm gerçekleşmiştir. Pankreas kanser insidansı 100.000 kişide 12.6 vakadır (10, 11).

Hastaların yaş aralığı 60-80 arasındadır; nadir olarak 40 yaşından genç vakalar bildirilmiştir (7). Daha genç yaşta ortaya çıkan PDAK’lar, erkeklerde kadınlardan 3 kat daha fazla görülürken, ileri yaşlarda kadın erkek arasındaki fark ortadan kalkar ve görülme oranları eşitlenir.

Etyolojisinde birçok faktör yer almaktadır; bunların bazıları kronik pankreatit, diyabet, sigara kullanımı, yüksek yağlı diyet, kimyasal karsinojenler ve gastrointestinal sistem cerrahisidir. Duktal adenokarsinomlar genellikle sporadiktir; ancak %10 vaka familial olduğu bildirilmektedir. Familial vakaların %80’inin nedeni bilinmemektedir. Bilinen nedenlerden bazıları herediter meme karsinomu sendromları (BRCA2 ya da daha az ihtimalle BRCA1 gen mutasyonu), familial atipik multipl mol-melanom (FAMM) sendromları (CDKN2A [p16] tümör supresör gen mutasyonu), Peutz-Jeghers sendromu (STK11 [LKB1] mutasyonu), familial/herediter pankreatit (PRSS1 gen mutasyonu), Familial adenomatöz polipozis sendromu (FAP), herediter nonpolipozis kolorektal kanser (HNPCC) sendromları ve Fankoni anemisidir (7, 12, 13).

2.4.2. Pankreatik Duktal Adenokarsinomun Moleküler Patogenezi

2.4.2.1. Kromozomal Değişiklikler

Kromozomal değişiklikler içerisinde en sık kromozom 1, 4, 6, 9, 12, 17, 18, 21, Y ve nadir olarak da diğer kromozomal kayıpların varlığı bildirilmiştir (14).

2.4.2.2. Gen Düzeyinde Değişiklikler

2.4.2.2.1. Tümör Baskılayıcı Genler

Tümör baskılayıcı genler, hücrede proliferasyonu ve apoptozisi düzenlemektedir. Bu genlerde meydana gelen mutasyonlar, hücrenin kontrolsüz proliferasyonuna neden olmaktadır. Pankreatik kanserde mutasyonu saptanan en önemli tümör baskılayıcı genler CDKN2A/p16/MTS1 (%95), TP53 (%50-75), MADH/SMAD4/DPC4 (%55), frajil histidin triad geni (FHIT) (%70) ve matriks metalloproteinazların doku inhibitör (TIMP) geni’dir (14).

2.4.2.2.2. Onkogenler ve Ekspresyon Düzeyindeki Değişiklikler

Duktal adenokarsinomlarda son zamanlarda yapılan çalışmalarda birçok mutasyon tanımlanmıştır. En çok görülen mutasyonlar *KRAS*, *CDKN2A* (*p16*), *TP53* ve *SMAD4*’tür. Pankreatik kanserin oluşumunda da rol alan önemli onkogenlerden biri *RAS* gen grubudur. *RAS* gen ailesinin *H-RAS*, *N-RAS* ve *K-RAS* olmak üzere 3 üyesi bulunmaktadır. Pankreatik kanserde *H-RAS* ve *N-RAS* gen mutasyonları çok nadir saptanmasına karşın, *K-RAS* gen

mutasyonunun %95'lik oranla pankreatik kanserde en sık saptanan mutasyon olduğu bildirilmektedir. PDAK olgularının %90'ında, *KRAS* onkogeninin 12. kodonunda mutasyon görülmektedir (14).

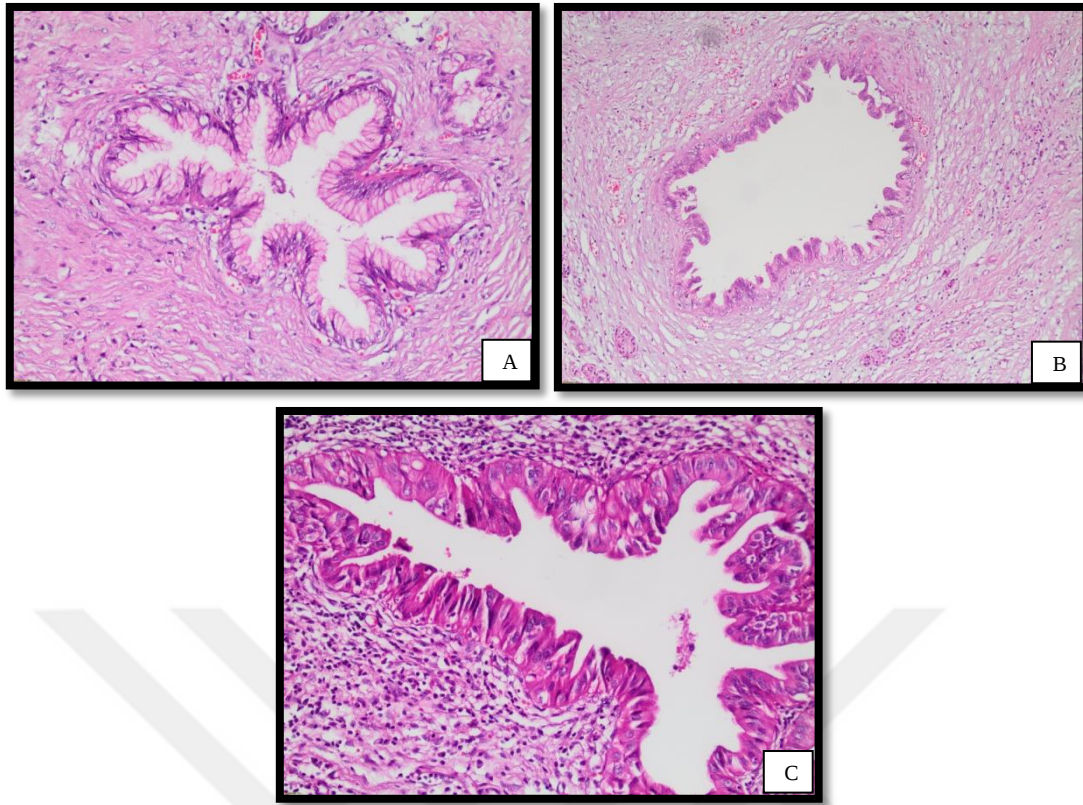
Pankreatik kanser olgularında, içerisinde büyüme hormonları ve onların reseptörlerinin de olduğu bazı genlerin ekspresyon seviyeleri artmaktadır. Bu genlerden ilki, HER2/Neu/ERBB genidir. HER2/Neu/ERBB normal duktal epitel hücrelerinde eksprese olmazken, pankreatik endokrin ve ekzokrin bezlerde eksprese olduğu; HER2 geninin artmış ekspresyonunun düşük dereceli PanİN (PanİN-1A) gibi preneoplastik lezyonlardan itibaren görülmeye başlandığı ve tüm tümör dokusu gelişimi boyunca ekspresyonun devam ettiği gösterilmiştir. Pankreatik kanser olgularında görülen “Epidermal Growth Factor (EGF)” ve “Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)” seviyesindeki artışın azalan yaşam süresiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, “Fibroblast Growth Factor (FGF)”, “Insulinlike Growth Factor (IGF-1)”, IGF-1 reseptör, “Nerve Growth Factor (NGF)” ve “Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)” genlerindeki ekspresyon artışının artan tümörjenite ile ilişkili olduğu tanımlanmaktadır. Transforman edici büyüme faktörü (TGF- β) reseptörü 3 izoformunun artan ekspresyon miktarının pankreatik kanser olgularında kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (14, 15).

2.4.3. Pankreatik Duktal Adenokarsinom (PDAK)'un Prekürsör Lezyonları

PDAK'ın, pankreatik intraepitelyal neoplaziler (PanİN'ler) olarak adlandırılan mikroskopik, invaziv olmayan, preneoplastik epitelyal proliferasyonlardan geliştiği bilinmektedir. PanİN'ler küçük çaplı pankreas duktuslarından (genellikle çapı <5 mm) gelişirler. PanİN önceden 3 aşamada derecelendirilmekteydi. Yeni bir konsensusla, 2 aşamalı derecelendirmenin (düşük/yüksek) tedavi opsiyonlarını belirlemede daha kolay uygulanabilir olduğu belirtilmiştir (16).

PanİN-düşük dereceli: Displazisiz yassı müsinöz epitel (PanİN-1A), displazisiz papiller müsinöz epitel (PanİN-1B) ve hafif-orta displazili (hafif-orta nükleer düzensizlik, hiperkromazi, polarite kaybı) yassı ya da papiller müsinöz epitel (PanİN-2) içerir.

PanİN-yüksek dereceli: Ağır displazili (ağır nükleer düzensizlik, hiperkromazi, polarite kaybı) yassı ya da papiller müsinöz epitel (PanİN-3) içerir. Karsinoma insitu'ya tekabül eden kribriformite ve tomurcuklanma içerebilir (**Şekil 10**).



Şekil 10. A,B: Düşük dereceli PanİN (A: PanİN-1,H&E, 200x; B: PanİN-2 H&E, 100x ; C: Yüksek dereceli PanİN (PanİN-3) (H&E, 200x)

Diğer prekürsör lezyonlar ise müsinöz kistik neoplazi (MKN) ve intraduktal papiller müsinöz neoplazilerdir (İPMN) (7). MKN; daha çok postmenopozal kadınlarda, pankreas kuyruğunda yerleşik, pankreatik duktal sistem ile ilişkisi bulunmayan, ovaryan stromanın çevrelediği, değişen derecelerde displazi içeren kolumnar müsinöz epitelle döşeli kistik lezyonlardır. MKN’lerde düşük dereceli, yüksek dereceli displazi görülebileceği gibi, %15 MKN vakasında invaziv karsinom gelişme riski vardır.

İPMN’ler pankreasta en sık görülen müsinöz kistik tümörlerdir. PDAK’dan sonra pankreatik rezeksiyonun 2. en sık nedenidir. İPMN; daha çok pankreas başında yerleşik, makroskopik olarak görülebilen (tipik olarak 1 cm’nin üzerinde), pankreas ana duktus ve/veya major dallarını tutan, duktus lümenine doğru büyüyen müsinöz yapıda neoplastik hücre proliferasyonudur. İPMN’lerde düşük ve yüksek dereceli displazi görülebileceği gibi, %30-40 İPMN vakasında invaziv karsinom gelişme riski vardır.

Hem MKN hem de İPMN olguları zemininde gelişen invaziv karsinomlar genellikle pankreatobiliyer tiptir (17, 18).

2.4.4. Pankreatik Duktal Adenokarsinomda Klinik Değerlendirme

Sarılık, ağrı ve kilo kaybı pankreas başı kanserinde en sık görülen semptomlardır. Sarılık genellikle daha geç ortaya çıkar, çünkü safra yolu veya ampuller bölgenin tıkanması genelde lokal ileri hastalıkta görülür. Gövde ve kuyruk tümörleri safra yollarını tıkamaz, bu nedenle bu hastalar sarılık şikayeti ile gelmezler, bunun yerine daha çok karın veya sırt ağrısı ile başvururlar. Ayrıca halsizlik, kusma, erken doyma, iştahsızlık gibi temel semptomlar sarılıktan önce ortaya çıkabilir.

Tanıda kullanılan yöntemler; ultrasonografi (US), bilgisayarlı tomografi (BT), magnetik rezonans inceleme (MRİ), endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi (ERCP), endoskopik ultrasonografi (EUS) ve tümör belirteçlerinin (CA 19-9, CEA) tayinidir. EUS veya BT eşliğinde yapılan ince iğne aspirasyon biyopsisi ve/veya tru-cut biyopsiler tanıda son derece yararlıdır (7).

Duktal adenokarsinomların %75'ten fazlası soliddir ve %60-70'i pankreas başında lokalizedir. Pankreasın kapsülü bulunmadığından, çevre yapılara (ortak safra kanalı, duodenum, peripankreatik yağlı doku, dalak , mide, kolon gibi) sık invazyon gösterir. Çoğu tümör major mezenterik damar invazyonu, karaciğer, periton ve uzak organ metastazı nedeniyle tanı anında opere edilemez aşamadır. Pankreasın baş kısmındaki karsinomlarda lenfatik drenaj; anterior ve posterior pankreatoduodenal, superior-inferior baş lenf nodlarına olur. Bu kompartmanlar standart Whipple operasyonları sırasında pankreas parankimiyle birlikte zaten rezeke edilir. Kuyruk ve gövde karsinomlarında lenfatik drenaj; superior ve inferior gövde ve splenik hilus lenf nodlarına olur.

2.4.5. Tedavi ve Sağkalım

Duktal adenokarsinom en ölümcül tümörlerdendir. Tedavisiz hastalarda ortalama sağkalım süresi 3 ay kadardır. Radikal rezeksiyon sonrası ortalama sağkalım süresi 10-20 aya kadar çıkabilir. Rezeke edilen vakalarda toplam 5 yıllık sağkalım oranı %3-4'tür. 5-florourasil ve gemsitabin içeren kemoterapi rejimlerine %10 hastada cevap alınabilmektedir. Radyoterapinin tek başına bir yararı yoktur (7).

2.4.6. Patolojik Evreleme

Pankreas kanserinin patolojik evrelemesi American Joint Committee on Cancer (AJCC) 2017 sınıflamasına göre aşağıdaki gibidir (19) :

Tablo 1. PDAK patolojik evreleme (AJCC 2017)

	Evre	Derecelendirme
Primer Tümör (T)	Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor
	T0	Primer tümör ile ilgili bulgu yok
	Tis	İnsitu karsinom
	T1	Tümör en büyük çapı ≤ 2 cm
	T1a	Tümör en büyük çapı $\leq 0,5$ cm
	T1b	Tümör en büyük çapı 0,5-1 cm
	T1c	Tümör en büyük çapı 1-2 cm
	T2	Tümör en büyük çapı 2-4 cm
	T3	Tümör en büyük çapı ≥ 4 cm
	T4	Tümör çölyak aksise, süperior mezenterik artere ve/veya hepatik artere invaze
Bölgesel Lenf Nodları (N)	Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
	N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
	N1	1-3 bölgesel lenf nodu metastazı
	N2	4 veya daha fazla bölgesel lenf nodu metastazı
Uzak Metastaz	M0	Uzak metastaz yok
	M1	Uzak metastaz var

2.4.7. Histopatolojik Bulgular

2.4.7.1. Makroskopik Bulgular

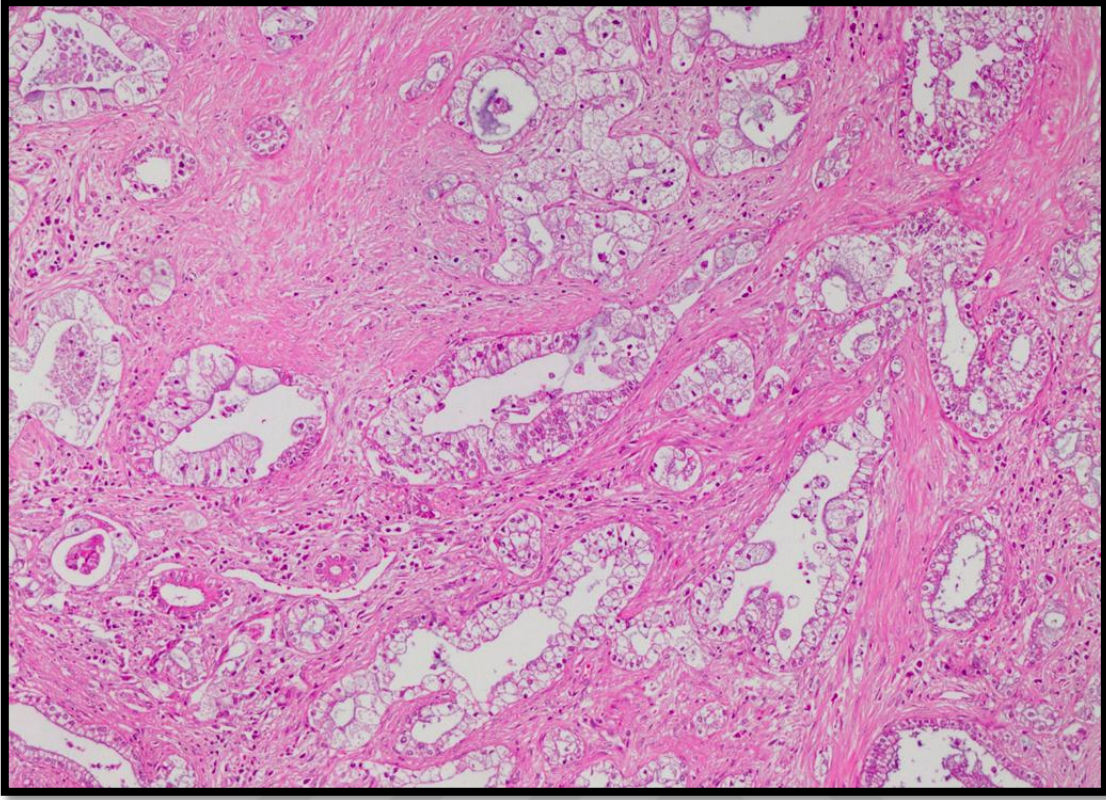
PDAK'larda pankreas başına yerleşik tümörler için genellikle Whipple (pankreatikoduodenektomi) operasyonu, kuyruk-gövde yerleşimli tümörler için ise genellikle distal pankreatektomi operasyonu uygulanır. Whipple operasyonu için cerrahi sınırlar; distal pankreatik (pankreas boyun, pankreatik duktus), retroperitoneal (ünsinat), ortak safra kanalı (koledok), proksimal mide ve distal duodenumdur. Distal pankreatektomi için cerrahi sınır; proksimal pankreas parankim cerrahi sınırdır (pankreatik duktus) (19, 20).

Makroskopik olarak tümörler gri-bej renkli, solid, sert, kötü ve infiltratif sınırlı olarak görülür. Genellikle tümörler 2-4 cm arasındadır; 1 cm altı tümör nadir olarak görülür (21). Tümörleri çevre kronik pankreatit alanlarından ayırmak zordur, bu nedenle makroskopik ölçülen boyutlar mikroskopik değerlendirmede değişebilmektedir. Makroskopik olarak genellikle solid tümörlerdir; nadir olarak nekroza bağlı kistik dilate alanlar içeren tümörler görülür. Tümör kitlesinin çoğunda makroskopik olarak irili ufaklı kistler görüldüğünde, akla büyük duktus tipi karsinom, koloidal karsinom; ya da daha büyük kistik alanlar görüldüğünde intraduktal papiller müsinöz neoplaziden kaynaklanan invaziv karsinom mutlaka gelmelidir. Kanama duktal adenokarsinomlarda sık olarak görülmezken, bunun istisnası osteoklast benzeri dev hücreler içeren andiferansiye karsinomdur. Osteoklast benzeri dev hücreler içeren andiferansiye karsinomlar, Wirsung gibi lümenli boşluklara polipoid tarzda büyümeler göstererek, açılıp kapanan sarılıklara neden olabilir (22).

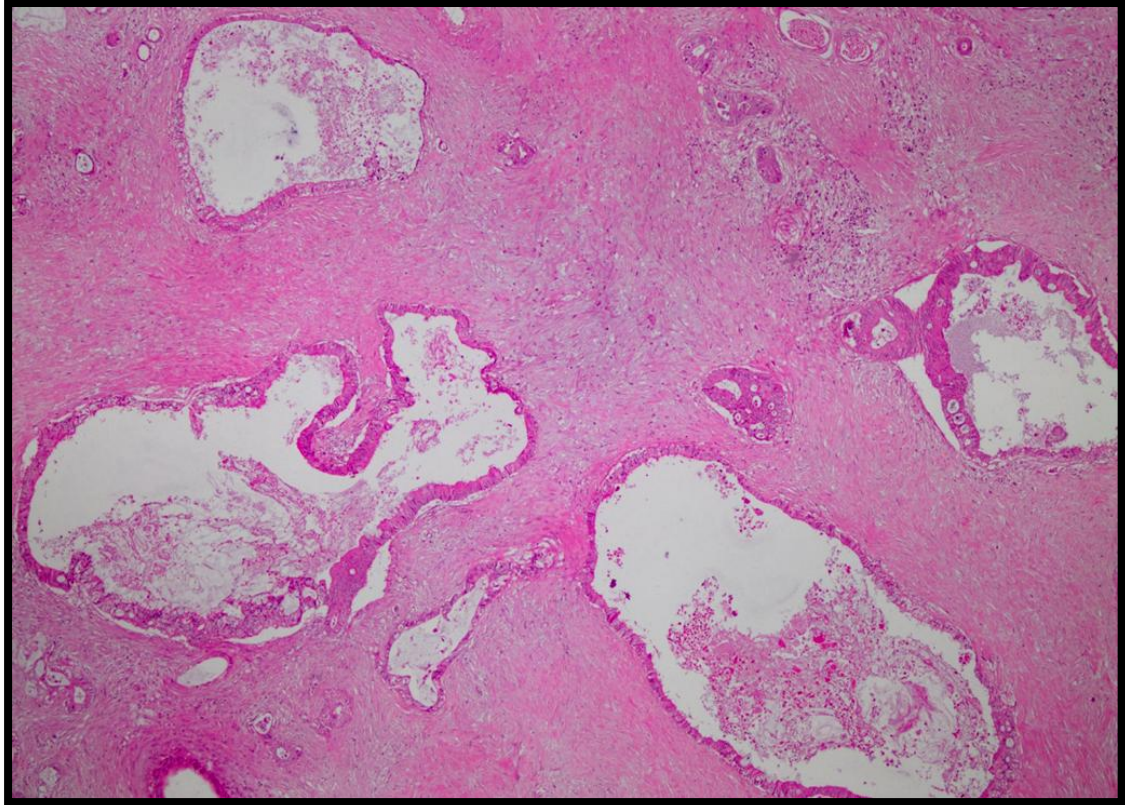
2.4.7.2. Mikroskopik Bulgular

Mikroskopik olarak; konvansiyonel PDAK, desmoplastik stroma içinde, küboidal yapıda, müsin içeren hücrelerden meydana gelen küçük tübüllerden oluşmaktadır. İyi diferansiye duktal adenokarsinomda hücreler büyüme paterni ve sitolojik görünüm açısından kronik pankreatitte izlenen benign nonneoplastik duktullere benzer. Malign glandlar, benign lobüller içindeki duktullerin gelişi güzel dağılımı gibi görünür. Malign bezleri döşeyen hücreler genellikle tek sıra olarak görünür, stratifikasyon ya da düzensiz papilla oluşumları da izlenebilir. Tümör hücrelerinin sitoplazması belirgindir ve müsin içerir, bazıları berrak hücre değişikliği de gösterebilir. Nükleuslar bazalde yerleşiktir, ancak bazı glandlardaki polarite kaybı da tipiktir. Nükleuslar şekil, büyüklük ve hücre içi yerleşimi bakımından değişkendir. Birbirine komşu iki hücrenin , nükleus boyutları arasında 4 kat fark olması karsinomu destekler. Pankreatik duktal karsinomun en önemli özelliklerinden biri de tümör heterojenitesidir. Aynı tümör içinde hem yapısal hem sitomorfolojik olarak belirgin heterojenite izlenir. Bu durum metastatik tümörlerde, primer odak tayini yapılırken PDAK metastazı lehine kullanılabilecek bir bulgudur (23).

Duktal adenokarsinom; köpüksü “foamy” gland, büyük duktus, vakuole, lobüler karsinom benzeri, solid, mikropapiller gibi paternler gösterebilir (**Şekil 11 ve 12**) .

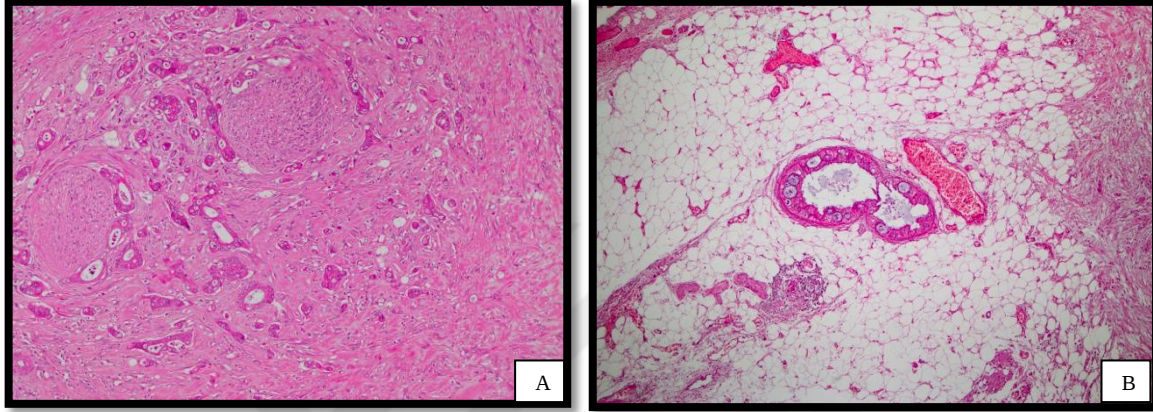


Şekil 11. “Foamy” köpüksü gland paterni (MÜTF 11774-13/ H&E, 100x)

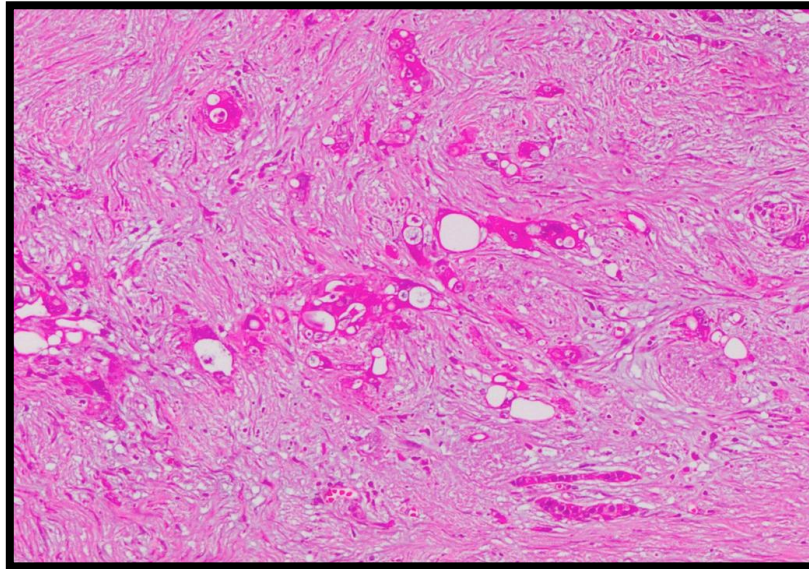


Şekil 12. Büyük duktus paterni (MÜTF B-4542-13/ H&E, 40x)

Perinöral ve vasküler invazyon sık görülür ve özellikle küçük biyopsilerde iyi diferansiye adenokarsinom tanısı koyabilmek açısından destekleyici bir bulgudur (**Şekil 13**). Peripankreatik yağ doku invazyonu da sıktır. Yağ doku içinde stroma olmaksızın glandlar görülmesi, malignite için güçlü bir bulgudur; (izole duktus fenomeni = Sharma bulgusu); ve bu bulgu lenfovasküler invazyon olarak kabul görmektedir (**Şekil 13**). Benign ve malign glandlar arasında ayırıcı tanı açısından yardımcı bir diğer bulgu da, büyük müköler damarlara komşuluk eden glandların görülmesidir. Kötü diferansiye adenokarsinomlarda, neoplastik glandlar arasında küçük kümeler halinde ya da tek tek duran, yüksek mitoz içeren, pleomorfik nükleuslu, kötü forme lümenli hücreler izlenir (**Şekil 14**).



Şekil 13. A: Perinöral invazyon (H&E, 100x) B: Vasküler invazyon; Sharma bulgusu (izole duktus fenomeni) (H&E, 40x)



Şekil 14. PDAK, yaygın desmoplastik stroma, nükleus boyut farklılıkları
(MÜTF B-1565-16/ H&E, 200x)

Desmoplastik stroma pankreas duktal adenokarsinomunun karakteristik özelliklerindendir. Stromal elemanlar fibroblastlar, kollajen lifler, yıldızlı hücreler ve inflamatuvar hücrelerdir.

Tümör hücreleri CK7, CK8, CK18, CK19 ve EMA ile pozitif boyanır. CK20 %25 vakada pozitifdir. MUC-1, MUC-3, MUC-4, MUC-5AC konvansiyonel duktal adenokarsinomda pozitifdir. MUC-2 intestinal diferansiyasyon gösteren alanlarda pozitif boyanır. MUC-6 pilorik gland diferansiyasyonunu gösterir ve %35 vakada pozitif boyanır (10).

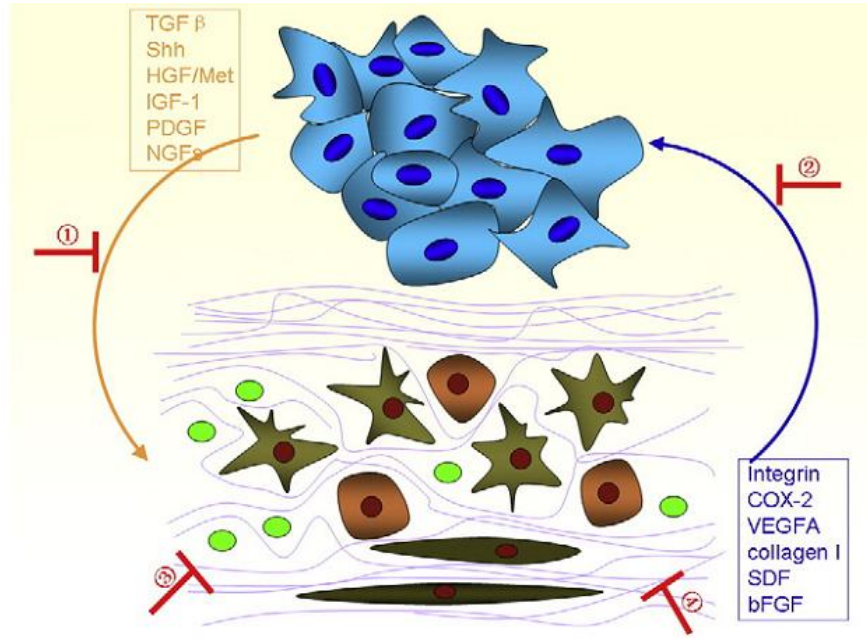
2.5. Stroma ve pankreatik duktal adenokarsinom

Pankreatik duktal adenokarsinom stromadan en zengin tümörlerdendir. Desmoplastik stroma tümör kütesinin büyük bir kısmını (%50-90) oluşturmaktadır (24-26).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda stromal mikroçevrenin, malign transformasyonun ve progresyonun mekanizmasında büyük rol oynadığı anlaşılmıştır (27, 28). Stromadaki yüksek matriks düzeyinin PDAK'lardaki kötü prognozla ilişkisi gösterilmiştir. Protoonkogenlerdeki ve tümör supresör genlerdeki mutasyonlar da hem tümör epitelinde hem de stromal hücrelerde gösterilebilmiştir. Normal pankreas stroması tümör gelişimini engeller veya geciktirirken, anormal stromal komponentler tümör gelişiminde rol oynamaktadır.

Pankreatik duktal adenokarsinom stroması selüler ve aselüler komponentlerden oluşan heterojen bir ortamdır (26). Bu komponentler fibroblastlar, miyofibroblastlar, pankreatik yıldızlı hücreler (PYH), düz kas hücreleri, adipositler, makrofajlar ve diğer inflamatuvar hücreler, kan ve lenfatik damarlar, ekstraselüler matriks (ESM), sitokinler ve büyüme faktörleridir (25, 29). Kanser hücreleri ve stromal hücreler arasında çeşitli sinyaller yoluyla birbirlerini aktive eden parakrin etkileşim döngüsü bulunmaktadır (**Şekil 15**) (25).

Desmoplastik yanıtın derecesine göre sınıflandırıldığı, kolorektal karsinomlar üzerine yapılan bir çalışma serisinde bu derecelendirmenin sağkalım ve diğer kötü prognostik faktörlerle ilişkisi gösterilmiştir. Bu sınıflamaya göre desmoplastik yanıt; miksoid stroma, keloid benzeri kollajen gibi parametrelere bakılarak matür, orta, immatür olarak 3 kategoriye ayrılmıştır (30, 31).



Şekil 15. PDAK hücreleri ve stromal hücreler arası etkileşim döngüsü

2.5.1. Pankreatik Yıldızsı Hücre

Pankreatik yıldızsı hücreler (PYH); ilk defa 1998’de tanımlanmıştır. PDAK’lardaki fibrozisten sorumlu primer hücrelerdir ve morfolojik ve biyokimyasal olarak hepatik stellat hücrelere benzerlik göstermektedirler (9, 29, 32-35). PYH, normal egzokrin pankreasta periasiner ve periduktal bölgelerde yerleşik, yıldız şeklinde, vitamin A depolayan hücrelerdir. Aktive olmadıkları dönemde tüm pankreas kütlelerinin %4 kadarını oluşturmaktadırlar (24). Vimentin, glial fibriller asidik protein (GFAP), desmin ile pozitif boyanırlar (32, 36).

İnflamasyon veya kanser gibi nedenlerle gelişen hasara yanıt olarak morfolojileri değişir. Parakrin sinyallerle, sessiz PYH’ler miyofibroblast benzeri fenotipe kavuşur ve vitamin A depolama yeteneklerini ve antifibrojenik lipid damlacıklarını kaybederler. Bu değişim sonrası α -SMA eksprese etmeye başlarlar. Aktivasyon sonucunda bazı yeni fonksiyonlar da kazanırlar: (1) proliferasyon ve migrasyon artışı; (2) aşırı ESM proteinini sentezleme; (3) PYH aktivasyonunu arttıran, otokrin döngüyü devam ettiren büyüme faktörü ve sitokinleri sentezleme (37-41).

Pankreatik yıldızsı hücrelerin sentezlediği ESM proteinlerinden bazıları kollajen I, kollajen III, fibronektin ve matriks metalloproteinazlardır (MMP) (24). Makrofajlar, trombositler, asiner hücreler, endotel hücreleri ve pankreatik kanser hücreleri (PKH) ürettikleri sitokinler ve büyüme faktörleri ile PYH’leri aktive halde tutarlar.

Parakrin etkileri olan bu sitokin ve faktörlerden bazıları TGF- β 1, fibroblast büyüme faktörü (FGF-2), aktivin A, TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, ESM metalloproteinaz indükleyici (EMMPRIN), eritrotensin (ET-1), anjiyotensin II, sonic hedgehog, platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ‘dür (32).

Aynı zamanda PYH otokrin döngüyle kendi kendini de aktive halde tutar. Bu döngüde rol alan sitokin ve faktörler ise; TGF- β 1, konnektif doku büyüme faktörü (CTGF) , PDGF, ET-1, Periostin, COX-2 (siklooksijenaz II) , IL-1 ve IL-6'dır (32, 42-44).

Direkt veya indirekt hücre kültürü ortamlarında yapılan çeşitli çalışmalarda, PYH'lerin Notch sinyal yolağını aktive ederek PKH'lerinin proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir (45, 46). PKH'leri, PYH'lerin galektin-3 (β -galaktozid bağlayan protein) ekspresyonunu artırarak, hem PKH hem PYH'lerin proliferasyonunu ve diğer PKH'lerinin de infiltrasyon yeteneğini stimüle eder (47).

Pankreatik yıldızlı hücreler, kanser hücrelerinin oksidatif stres sonrası apoptoz hızını da düşürürler (48). Ayrıca; PYH'lerin sentezledikleri ESM elemanlarından olan laminin ve fibronektine bağlanan PKH'lerinin, apoptozdan kurtulduğu da gösterilmiştir .

Pankreatik yıldızlı hücrelerin metastaz ve invazyonu indükledikleri de birçok çalışma ile gösterilmiştir. Tümör hücrelerinin eksprese ettiği EMMPRIN, PYH'ler tarafından MMP-2 sentezini artırmakta ve bunun sonucunda tümör hücrelerinin invazyon kapasitesi yükselmektedir (49). Tümör hücreleri tarafından eksprese edilen, invazyonu ve tümör büyümesini indükleyen serin proteaz inhibitör neksin 2 (SERPINE2), yalnızca PYH varlığında bu görevini yerine getirebilmektedir (50). PYH'ler tarafından eksprese edilen sisteinden zengin ve asidik sentezlenmiş protein (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine/SPARC) molekülü de invazyon, metastaz ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur(51).

Pankreatik yıldızlı hücrelerin ortamdaki oksijen düzeyine etkisi karmaşık ve sürekli. PYH'ler periostin, FGF, VEGF gibi proanjiogenik molekülleri sentezlerler (52-54). Kanser hücreleri tek başınayken endotel hücresi gelişimini baskımlarken, PYH'ler ile birlikte VEGF ekspresyonunu ve bunun sonucunda da endotel hücre proliferasyonu ve dallanmasını indükler (53). Ancak, PYH'ler aynı zamanda fibrojenizden sorumlu oldukları için tümörde hipoksik ve hipovasküler ortamdan da sorumludurlar (52). Aynı zamanda, hipoksik ortam PYH'leri aktive etmeyi sürdürerek fibrozisi devamlı kılar (54).

Pankreatik yıldızlı hücreler tümör içinde immünosupresif bir ortam oluşturur. Aktive PYH'ler galektin-1 eksprese ederek T hücrelerinin apoptozunu indükler ve hücrenin sağkalımını azaltır (55). PYH'ler kemorezistans ve radyorezistans da sorumludur (24). Çeşitli sitokinler salarak bazı kemoterapötiklerin (etoposid vb.) apoptotik etkilerini azaltır. Ya da kollajen 1 ve fibronektin gibi ESM proteinlerini sentezleyip bazı kemoterapötiklerin (5-fluorourasil, sisplatin, doksorubisin gibi) sitotoksik etkisini azaltarak kemoradyorezistansa neden olabilir (24).

Ekstraselüler matriks proteinleri iki gruba ayrılır: (1) **Yapısal proteinler**, ESM'in intrinsik komponentleridir; bunların içinde kollajenler, laminin, fibronektin ve vitronektin yer alır. (2) **Matriselüler proteinler**, ESM'e geçici olarak salınır ve hücre fonksiyonlarını, hücre-hücre, hücre-ESM etkileşimlerini değiştirirler; SPARC, osteopontin, trombospondin, tenascin ve galektin bu grupta yer alır (56).

2.5.2. SPARC/Osteonektin (sisteinden zengin ve asidik sentezlenmiş protein = Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine)

SPARC diğer adıyla osteonektin veya BM-40 (bazal membran 40), 32-43 kDa ağırlığında matriselüler protein grubundan kalsiyum bağlayan bir glikoproteindir (57). SPARC geni 5q kromozomu üzerinde yerleşiktir. SPARC proteini yapısal olarak 3 farklı kısma ayrılır: N-ucu; asidiktir, düşük afiniteyle kalsiyuma bağlanır, hidroksiapatitlerle etkileşime geçer ve kıkırdak, kemik mineralizasyonunda rol oynar. Follastatin benzeri kısmı sisteinden zengin alanıdır, TGF β ailesinden aktivin ve inhibine bağlanır. C-ucu ise ekstraselüler kalsiyum bağlayan kısmını oluşturur; endotel hücrelerine bağlanarak onların proliferasyonunu inhibe eder ve ayrıca ESM'te yer alan çeşitli kollajen tiplerine özellikle kollajen tip IV'e bağlanır (57). SPARC; büyüme, doku tamiri, anjiogenez, matriks hücre adezyonu, hücre farklılaşması, proliferasyonu ve migrasyonu gibi birçok biyolojik olayda rol oynar. SPARC, matriks metalloproteinaz aktivitesini regüle eder (58, 59). VEGF, PDGF ve FGF sinyal yollarına etki ederek anjiogenezini inhibe eder (60). SPARC ve TGF β birbirlerini aktive edici etkiye sahiptirler.

Epitelyal mezankimal değişim / dönüşüm (EMD); epitelyal belirteç eksprese eden, birbirlerine sıkı bağlantılarla bağlı, bazal ve apikal polariteye sahip, kümeler halinde dizilim gösteren epitelyal hücrelerin, vimentin gibi mezenkimal belirteç eksprese eden, iğsi hücrelere dönüşümüne denir. Bu olay, embriyonal gelişim sırasında önemliken, özellikle kanser gelişimi sırasında migrasyon, invazyon ve antikanser tedaviye direnci artıran bir aşamadır. SPARC, hücrelerin antiadeziv fenotipe sahip olmasını indükleyerek EMD etkisini aktive eder (61). SPARC ekspresyonu baş-boyun, akciğer, meme, mide, kolon, özofagus, endometrium, serviks, prostat, karaciğer, biliyer ve mesane karsinomları ile melanom, astrositom ve meningiom gibi birçok insan tümöründe gösterilmiştir (62-72). PDAK'larda SPARC ekspresyonu normal pankreasa göre artmıştır. Tümör hücrelerinde ekspresyonu zayıfken, tümör stromasında (fibroblast ve PYH) ekspresyonu yoğundur (62). Peritümöral stromadaki yüksek SPARC ekspresyonu kötü prognozla ilişkili olarak bulunmuştur (73).

Pankreas kanseri tedavisi için kullanılan FOLFİRİNOX rejimi (leucovorin, 5-FU, irinotekan, oxaliplatin) yoğun yan etkileri nedeniyle yalnızca performans statüsü iyi hastalarda kullanılabilmektedir. İkinci bir rejim olan nabpaklitaksel-gemsitabin tek başına gemsitabin içeren tedavilerden çok daha iyi sonuç vermektedir (74). Klinik olarak SPARC'ın bir diğer önemi de, albumin bağlı taksan grubundan bir kemoterapötik olan nab-paklitakselin dokudaki göstergesi olmasıdır. Faz I / II çalışmalarda gemsitabin ve nab-paklitaksel kombinasyon tedavilerinde, yüksek SPARC ekspresyonu uzun sağkalımla ilişkili bulunmuştur (75). Bir başka Faz III klinik çalışmada ise; nab-paklitaksel ve gemsitabin kombinasyon tedavisinde, SPARC hedef ve pozitif prediktif faktör olarak bulunmuş ve tek başına gemsitabin ile olan tedavilerden daha iyi bir sonuç elde edilmiştir (76).

2.5.3. Galektin-1

Galektin-1, aktive PYH'lerden güçlü şekilde eksprese edilen, β -galaktozite afinitesi olan karbonhidrat bağlayan bir proteindir (77, 78). Galektin-1, 14 kDa ağırlığında iki homodimerden oluşur, iki β -galaktozit bağlayan kısmı vardır ve normal ve patolojik durumlarda birçok dokuda farklı seviyelerde eksprese edilir . Galektin-1, hücre nükleusunda, sitoplazmasında, yüzeyinde veya ekstraselüler matrikste bulunabilir . Hücre içinde bulunup, glukozdan bağımsız olarak hücre içi proteinleri ile etkileşebilir ya da hücre dışında aynı hücreden veya komşu hücrelerden sentezlenen β -galaktozit ile glukoz bağımlı olarak etkileşebilir . Hücre proliferasyonu, migrasyonu, adezyonu, inflamasyon ve immün cevap gibi birçok olayda rol oynamaktadır (79, 80). Galektin-1, gastrik, hepatoselüler ve kolorektal karsinom gibi birçok gastrointestinal tümörde eksprese olmaktadır (81-83). Galektin-1 tümör invazyonu, metastaz ve anjiogenezi aktive ederek kanser gelişimini indükler (84, 85). Galektin-1 normal pankreasta düşük eksprese edilir, kronik pankreatitte fibroblastlarda orta derecede eksprese olur, PDAK'larda ise stromada yoğun eksprese edilirken, tümör hücrelerinde eksprese olmaz (86). Son yıllarda yapılan bir çalışmada Galektin-1 lenf nodu metastazı, tümör boyutu, evre, tümörün derecesi, perinöral invazyon ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Aynı çalışmada TGF- β 'nın Galektin-1'in aktivitesini artırdığı görülmüştür (87).

2.5.4. Kollajen Tip IV

Kollajen tip IV bütün bazal membranlarda bulunan bir ESM proteindir (88). Kollajen IV bazal membranda supramoleküler bir ağ oluşturup, epitelyal hücrelerin adezyon, migrasyon ve diferansiyasyonunu düzenler. Bazal membranda 6 farklı α zinciri ($\alpha 1(IV)$ - $\alpha 6(IV)$) farklı dokularda farklı kombinasyonlarda bir araya gelerek üçlü heliks yapılarını oluştururlar.

Yapılan son çalışmalarda Kollajen Tip IV fragmentlerinin antianjiogenik etkisi olduğu gösterilmiştir (89). Kollajen tip IV'ün immünfloresan yöntemiyle incelendiği bir çalışmada; yüksek Kollajen tip IV seviyesinin PDAK'lar için kötü prognostik faktör ve hızlı relaps göstergesi olduğu gösterilmiştir (90). Bu çalışmada PDAK gelişimi sırasında Kollajen Tip IV proteininin α zincir değişimleri de gösterilmiştir. Buna göre normal pankreas dokusunda $\alpha 1(IV)$ ve $\alpha 2(IV)$ zincirleri vasküler ve epitelyal bazal membranlarda yüksek olarak eksprese edilmiştir, $\alpha 3(IV)$ ve $\alpha 5(IV)$ zincirleri ise gösterilememiştir. PDAK'nda ise kuvvetli $\alpha 1(IV)$ $\alpha 2(IV)$ zincirleri bu sefer stromada ve vasküler bazal membranlarda eksprese olmaktadır. $\alpha 3(IV)$ ve $\alpha 5(IV)$ zincirleri PDAK'larda eksprese olmamaktadır. Bu zincirler tümör hücreleri tarafından sentezlenip ESM'e salınmaktadır (90).

2.5.5. VEGF (Vasküler endotelyal büyüme faktörü = Vascular Endothelial Growth Factor)

VEGF ailesi, VEGF-A, -B, -C ve -D, ve plasental büyüme faktörü anjiyogenik mitojenlerdir. VEGF ligandları üç tirozin kinaz reseptörüne bağlanır (VEGFR-1, VEGFR-2 ve VEGFR-3). VEGF-A birçok solid tümörden sekrete edilerek VEGFR-1 ve VEGFR-2'yi aktive eder. PDAK'lar VEGF ve VEGFR'lerini yoğun olarak eksprese ederler ve vaskülariteyi indüklerler (91, 92).

VEGF birçok malign tümörde artar, anjiogenez ve kötü prognozla ilişkilidir (93). Vasküler endotel hücreleri için proliferasyon, permeabiliteyi indükleyen ve antiapoptotik bir faktördür. Aynı zamanda, VEGF ekspresyonu ile PDAK'larda karaciğer metastaz varlığı arasında korelasyon gösterilmiştir. Bevasizumab, VEGF inhibisyonu yapan kemoterapötik bir ajandır ve PDAK tedavisinde gemsitabin ile kombine edildiğinde sağkalımı uzattığı gösterilmiştir (94, 95).

2.5.6. Pankreas duktal adenokarsinom stroması ile ilgili kısıtlılıklar

Stromanın tümörü uyarıcı ve aktive edici komponentlerinin yanısıra baskılayıcı komponentlerinin de olduğunu unutmamak gerekir.

Yapılan çalışmalarda pankreatik yıldızlı hücrelerden zengin, hücresel stroma içeren PDAK olgularında prognoz daha kötü olurken, kollajenden zengin hücreden fakir stroma içeren PDAK olgularında prognoz daha iyi olmaktadır (96). Bu durum stromayı hedef alan tedaviler denenirken ve uygulanırken dikkatli olunmasını gerektirmektedir (97). Bu amaçla yapılan ilk klinik denemelerden olan fare deneyi çalışmasında, stromaya yönelik tedavi verilen farelerde daha fazla mortalite görülmesi nedeniyle çalışma durdurulmuştur (98) (IPI-926-03 denemesi ; <http://www.clinicaltrials.gov/>). Bu denemenin başarısızlığının nedeni stroma komponentine seçici olmayan bir şekilde etki eden ajan kullanılması olarak gösterilmiştir (97). Benzer şekilde multi-matriks metalloproteinaz inhibitörü ile yapılan bir çalışmada da sağkalıma katkı sağlanamamıştır (99).

Pankreatik yıldızlı hücrelerin, hastalığın erken veya geç evresinde, tümörün merkezi veya periferinde yerleşimli olmasına göre anjiyogenik veya antianjiyogenik etki ettiği gösterilmiştir (100). Yani tedaviye karar verirken tümörün hangi kısmına ve komponentine, hangi aşamada müdahale edileceğine iyi karar verilmesi gerekmektedir.

Birçok araştırmada, PYH'ler erken preneoplastik lezyon aşamalarından itibaren gösterilmiştir. Epitelyal karsinogenez sırasında PYH'ler de aktive olup miyofibroblast morfolojisi gösterirler. Bu gözlem 3 hipotezle açıklanabilir; (1) PYH'ler karsinogenezin erken aşamalarından itibaren tümör hücreleriyle birlikte ortak olarak karsinogeneze etki ediyor olabilir, (2) erken preneoplastik aşamalardan itibaren tümör hücrelerini çevreleyip onları sınırlamaya çalışıyor olabilir, (3) PYH'ler genetik defektif hücrelerin çevresinde öncelikle sınırlayıcı bir şekilde aktive olup, ESM elemanları sentezleyerek stromayı daha fibrotik hale getirip; ilerleyen evrelerde hipoksik ortam oluşturup, ortama reaktif oksijen moleküllerinin salınmasına ve epitelyal hücrelerde genetik instabiliteye sebep oluyor olabilirler (101).

Bütün bu hipotezler , başarısız klinik denemeler ve PDAK stromasının homojen bir ortam olmaması göz önüne alınarak, bu konu çok dikkatli çalışılmalı ve değerlendirilmelidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Ocak 2011-Mayıs 2016 yılları arasında pankreas rezeksiyonu uygulanmış ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda duktal adenokarsinom tanısı almış 81 olgu retrospektif olarak incelendi. Olgulara ait patoloji raporları ve hemotoksilen-eosin boyalı lamalar arşivden çıkarılarak tekrar değerlendirildi. Yapılan tekrar değerlendirmede, ampulla tümörü ya da koledok tümörü olduğuna kanaat getirilen vakalar çalışmadan dışlandı. Toplam sağkalım verilerine ulaşılırken ameliyat sonrası ilk bir ay içinde ölen olgular operasyon komplikasyonu olarak değerlendirildiğinden bu vakalar istatistik değerlendirmeden dışlandı. Sonuçta 76 pankreatik duktal adenokarsinom vakası çalışmaya dahil edildi.

3.2. Etik Kurul

88 protokol numaralı projemiz, 22.06.2015-6 sayılı yazı ile Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından onaylanmıştır. Projemiz; SAG-C-TUP-110915-0425 proje no ile, Marmara Üniversitesi BAPKO (Bilimsel Araştırma ve Projeler Komisyonu)'nun finansal desteği ile gerçekleştirilmiştir.

3.3. Klinik Veriler

Hastaların yaşları, klinik istem raporları ve biyopsi protokol barkodları esas alınarak, sayısal olarak değerlendirildi. Klinik veri, cerrahi öncesi/sonrası tedavi, metastaz varlığı gibi veriler hastane otomasyon sisteminden elde edildi. Sağkalım bilgilerine T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ölüm Bildirim Sistemi'nden ulaşıldı.

Hastaların onkoloji dosyaları hastanemiz onkoloji bölümü arşivinden taranıp, 50 hastanın onkoloji dosya numarasına ulaşıldı. Ancak bu hastalardan yalnızca 24'ünün dosyası onkoloji bölümü arşivinden elde edilebildi.

3.4. Histopatolojik Veriler

Tümör; histolojik alt tipi, derecelendirme (Grade) , yerleşim yeri, çapı , lenfatik, vasküler, perinöral invazyon, cerrahi sınır, patolojik evreleme (AJCC 2010/2017'ye göre) açısından patoloji raporu esas alınarak değerlendirildi.

Uygun fiksasyona sahip, takip artefaktı içermeyen ve yeterli tümör alanı içeren olgulardan stromayı ve tümörü en iyi yansıtan blok ve/veya bloklar seçildi.

Stroma değerlendirmesinde yıldızsı hücreden zengin olabilecek alanların yanısıra kollajenden zengin (keloid benzeri) alanların da blokta yer almasına dikkat edildi. Tümör nekrozu olan bloklar seçilmemeye çalışıldı, ancak bazı tümörlerde nekroz yaygın ve tüm bloklarda mevcut olduğundan mecburen nekrozlu bloklar çalışmaya dahil edildi. Elimizde hali hazırda bulunan H&E lamlarından solmuş olanlar yeniden boyanarak Ueno ve ark.'nın kolon kanserinde yaptığı son çalışmalar ve Wang ve ark.'nın PDAK stromasını incelediği yayın referans alınarak tümör stroması komponent ve yoğunluğuna göre skorlandı (30, 31, 102). Buna göre gevşek miksoid yapıda, yalnızca ince yapıda kollajen içeren stroma hafif (miksoid), keloid benzeri bantlar tarzında kollajen içeren stroma orta (keloid), matür elonge sıkı kollajen demetleri içeren stroma kuvvetli (matür) olarak skorlandı. Vakaların tümör içeren bütün lamaları taranıp komponentlerin yüzde değerleri hesaplandı ve en yaygın komponent dominant stromal patern olarak belirlendi.

Tümörlerin histolojik alt tip ve paternlerine ayrı ayrı bakılmadı ancak bazı paternlerin (köpüksü gland, büyük duktus vb.) boyanma şekillerine dikkat edildi. Bazı vakalarda, lam üzerinde mevcut olan normal pankreas ve kronik pankreatit alanlarının da boyanma şekil ve yaygınlıklarına dikkat edildi.

3.5. İmmünohistokimya (İHK)

Tümörlere ait seçilen (n=76) parafin bloklardan elde edilen kesitlere; Anti-Osteonektin (SPARC) , SMA, Anti-VEGF, Galektin-1 ve Kollajen Tip IV (Kol-IV) immünohistokimyası uygulandı (Tablo 2) .

3.5.1. İmmünohistokimya Uygulama Yöntemi

Formalin fikse parafine gömülü dokulardan, pozitif şarjlı lamlara 4 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Leica Bond-Max immünohistokimya cihazı kullanılarak yapılan boyama işleminde; öncelikle dokudaki endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük H₂O₂ (metanol) ile baskılandı, maskelenen antijenleri açığa çıkarmak amacı ile, Kol-IV ve Osteonektin boyaları için pH6 Sitrat Tampon, Anti-VEGF, SMA, Galektin-1 boyaları için pH8 EDTA Tampon çözeltileri antijen retrieval işlemi için kullanıldı, ardından; 1:200 dilüsyon oranında SMA (Klon 1A4, Cell Marque), 1:200 dilüsyon oranında Anti-VEGF-A (Tavşan poliklonal antikor) (Katalog ABS82, Chemicon, EMD Millipore), 1:1000 dilüsyon oranında Anti-Osteonektin (Tavşan poliklonal antikor) (Katalog AB1858, Chemicon, EMD Millipore), 1:100 dilüsyon oranında Kollajen Tip IV (Klon CIV22, Cell Marque), 1:250 dilüsyon oranında Galektin-1/LGALS1 (Klon D608T, Cell Signaling) antikorları damlatılarak oda ısısında her biri 45 dakika süre ile inkübe edildi. Primer antikorların ardından cihazda post primer ve poly-HRP solüsyonları (Bond Polymer refine Detection Kit; DS9800, Leica) uygulandı. Görüntülemek amacıyla kromojen olarak diaminobenzidine (DAB) kullanıldı ve Mayer Hematoksilen ile yapılan nükleer zıt boyamanın ardından kesitler etanol serileri ile dehidrate edildi. Boyanan tüm lamalar kapatılarak ışık mikroskopunda değerlendirildi (Tablo 2) .

Tablo 2. Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçler

Antikor	Marka	Klon/Katalog	Dilüsyon	Uygulama
SMA	Cell Marque	1A4	1:200	Leica Bond-Max İHK cihazı
Anti-VEGF-A	EMD Millipore	ABS82	1:200	Leica Bond-Max İHK cihazı
Kollajen tip IV	Cell Marque	CIV22	1:100	Leica Bond-Max İHK cihazı
Anti-Osteonektin	EMD Millipore	AB1858	1:1000	Leica Bond-Max İHK cihazı
Galektin-1	Cell Signaling	D608T	1:250	Leica Bond-Max İHK cihazı

3.5.2. İmmünohistokimya İmmünekspresyon Değerlendirilmesi

3.5.2.1. Düz Kas Aktini (Smooth Muscle Actin (SMA))

Eksternal pozitif kontrol olarak, normal kolon örneklerindeki duvar kas yapıları ve damar düz kaslarındaki boyanma esas alındı. İnternal pozitif kontrol olarak damar düz kas yapılarındaki sitoplazmik boyanma esas alındı. Normal duktal hücreler, asinuslar ve adacık hücrelerindeki boyanmama internal negatif kontrol olarak kullanıldı (103).

Literatürde SMA immünohistokimya boyanması için kesinleştirilmiş bir skorlama kriteri bulunmamaktadır. Çalışmamızda tüm belirteçler için profilimize en uygun skorlama sistemini oluşturmak amacıyla en kapsamlı rehber yayın seçildi (104).

Stroma boyanma yaygınlığı; %0-10 = skor 0, %11-50 = skor 1, %51-75 = skor 2, %76-100 = skor 3 olarak değerlendirildi. Stroma boyanma yoğunluğu göz kararı; yok= skor 0, zayıf =skor 1, orta =skor 2, kuvvetli =skor 3 olarak değerlendirildi (**Tablo 3**) . Yaygınlık ve yoğunluk değerleri toplanıp, toplamaları 0-1 olanlara negatif, 2-3 olanlara düşük, 4-5 olanlara orta, 6 olanlara yüksek olmak üzere total skor verildi.

3.5.2.2. Kollajen Tip 4 (Collagen IV)

Eksternal pozitif kontrol olarak bazal membrandan en zengin dokulardan akciğer ve plasenta kullanıldı. İnternal pozitif kontrol olarak normal pankreas dokusundaki bazal membran boyanması esas alındı . Negatif kontrol olarak tümör hücrelerindeki boyanmama esas alındı. Boyanma yaygınlık ve yoğunluğu SMA skorlamasına benzer şekilde gruplandırıldı (**Tablo 3**). Yaygınlık ve yoğunluk değerleri toplanıp, toplamaları 0-1 olanlara negatif, 2-3 olanlara düşük, 4-5 olanlara orta, 6 olanlara yüksek olmak üzere total skor verildi.

Tablo 3. SMA ve Kollajen IV için stroma immünekspresyon skorlaması

Skor	Yaygınlık (%)	Yoğunluk
0	0-10	Yok
1	11-50	Zayıf
2	51-75	Orta
3	76-100	Kuvvetli

3.5.2.3. Anti-Osteonektin (SPARC)

Eksternal pozitif kontrol olarak kıkırdak dokusu ve nedbe dokusu kullanıldı. Literatürde farklı marka ve klonlarla farklı tümör çeşitleri üzerine çalışılmış yayınlarda değerlendirmelerde belirli bir standardizasyon yoktur.

Skorlamada tümör hücresi ve stroma sitoplazmik boyanması ayrı ayrı değerlendirildi. Stroma boyanma yaygınlığı; %0-10 =skor 0, %11-50 =skor 1, %51-75 =skor 2, %76-100 =skor 3 olarak değerlendirildi. Stroma boyanma yoğunluğu göz kararı; yok =skor 0, zayıf =skor 1, orta =skor 2, kuvvetli =skor 3 olarak değerlendirildi.

Tümör boyanma yaygınlığı; %0-10 =skor 0, %11-50 =skor 1, %51-75 =skor 2, %76-100 =skor 3 olarak değerlendirildi. Tümör boyanma yoğunluğu göz kararı; yok =skor 0, zayıf =skor 1, orta =skor 2, kuvvetli =skor 3 olarak değerlendirildi (**Tablo 4**) .

Tümör ve stroma boyanma değerlendirmesinde herbiri için yaygınlık ve yoğunluk değerleri toplanıp toplamaları 0-1 olanlara negatif, 2-3 olanlara düşük, 4-5 olanlara orta, 6 olanlara yüksek olmak üzere total skor verildi.

3.5.2.4. Anti-VEGF

Eksternal pozitif kontrol olarak damardan zengin olduğundan plasenta dokusu kullanıldı. İnternal pozitif kontrol olarak normal pankreas adacık hücrelerindeki boyanma esas alındı .

Skorlamada tümör hücresi ve stroma sitoplazmik boyanması ayrı ayrı değerlendirildi. Literatürde böyle bir değerlendirme ile karşılaşılmadı. Tümör ve stromadaki boyanmayı beraber değerlendiren yayınlar veya sadece tümör boyanmasını değerlendiren yayınlar mevcuttu (105). Bu çalışmada yaygınlık ve yoğunluk değerlendirmesi SPARC ve Galektin-1 ile benzer olarak yapıldı (**Tablo 4**) . Tümör ve stroma boyanma değerlendirmesinde herbiri için yaygınlık ve yoğunluk değerleri toplanıp toplamaları 0-1 olanlara negatif, 2-3 olanlara düşük, 4-5 olanlara orta, 6 olanlara yüksek olmak üzere total skor verildi.

3.5.2.5. Galektin-1

Eksternal kontrol olarak plasenta dokusu kullanıldı. Skorlamada tümör hücresi ve stroma sitoplazmik boyanması yaygınlık ve yoğunluk açısından ayrı ayrı ve SPARC ve Anti-VEGF ile benzer olarak değerlendirildi (**Tablo 4**) . Ancak boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı diğer belirteçlere göre çok daha hafif olduğundan farklı şekilde gruplandırıldı. Yaygınlık ve yoğunluk toplamaları 0-1 olanlar negatif, 2-3 olanlar düşük, 4-6 olanlar yüksek olarak gruplandı.

Tablo 4. Anti-osteonektin, Anti-VEGF ve Galektin-1'in stroma ve tümördeki immünoekspresyon skorlaması

Skor	Yaygınlık (%)	Yoğunluk
0	0-10	Yok
1	11-50	Zayıf
2	51-75	Orta
3	76-100	Kuvvetli

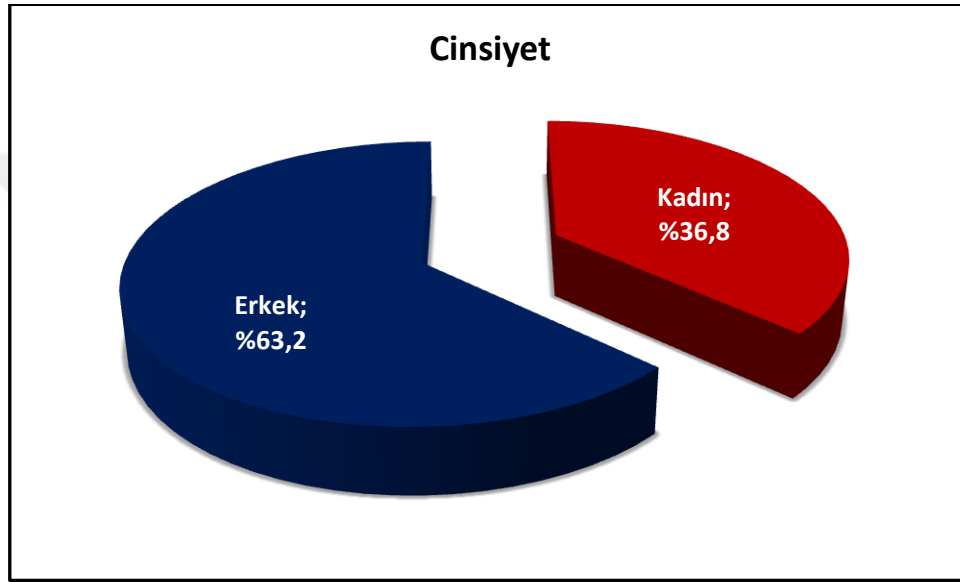
3.6. İstatistik

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, yüzde, minimum, maksimum) yanı sıra nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile sınıandı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare test, Fisher's exact test ve Fisher-Freeman-Halton exact test kullanıldı. Yaşam süresi ve ölüm üzerine etki eden faktörlerin incelenmesinde Cox regresyon analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Bulgular

Çalışma %36.8'i (n=28) kadın, %63.2'si (n=48) erkek olmak üzere toplam 76 olgu ile yapıldı (**Şekil 16**). Olguların yaşları 34 ile 84 arasında değişmekte olup, ortalama 63.24 ± 9.61 yıldır; %53.9'unun (n=41) yaşı 65 yaşın altında, %46.1'inin (n=35) yaşı 65 yaşın üzerindedir.

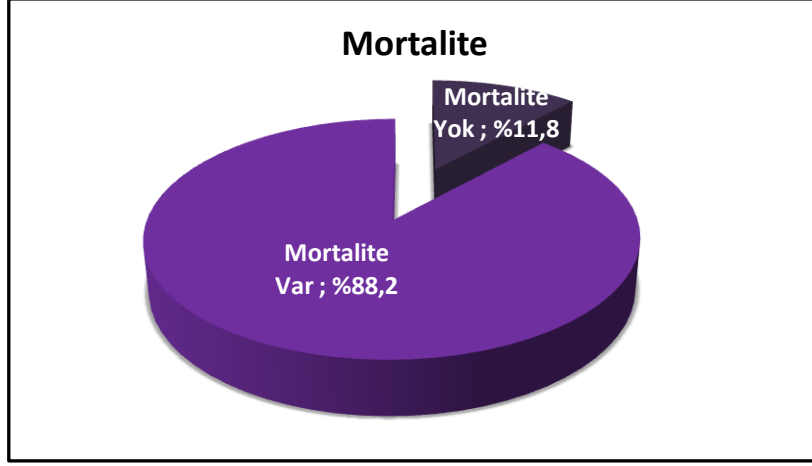


Şekil 16. Cinsiyet oranlarının dağılımı

Olguların toplam yaşam süreleri 1.6 ile 75 ay arasında değişmekte olup, ortalama 17.91 ± 14.57 aydır. Olguların %11.8'inde (n=9) mortalite görülmezken, %88.2'sinde (n=67) mortalite görülmektedir (**Tablo 5**) (**Şekil 17**).

Tablo 5. Demografik Bulguların Dağılımı

Demografik Bulgular		
Yaş (yıl)	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	34-84 (64)
	<i>Ort±ss</i>	63.24±9.61
	< 65 yaş	41 (53.9)
	≥ 65 yaş	35 (46.1)
Cinsiyet; n (%)	Kadın	28 (36.8)
	Erkek	48 (63.2)
Toplam yaşam süresi (ay)	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	1.6-75 (12.3)
	<i>Ort±ss</i>	17.91±14.57
Mortalite; n (%)	Yok	9 (11.8)
	Var	67 (88.2)



Şekil 17. Mortalite oranlarının dağılımı

4.2. Klinikopatolojik Bulgular

4.2.1. Klinik Bulgular

Onkoloji dosyasına ulaşılabilen 24 hastadan 19'u adjuvan kemoterapi olarak gemsitabin almıştır. Bir hasta FOLFIRI, 2 hasta sisplatin+gemsitabin tedavisi almıştır. İki hastanın ise dosyasında sadece anamnez mevcut olup kemoterapi bilgileri mevcut değildir. Hastalardan 11'i kemoterapi yanında adjuvan radyoterapi de almıştır. 18 hastada takip sırasında metastaz, nüks veya progresyon gelişmesi üzerine farklı kemoterapi rejimleri de uygulanmıştır. Uygulanan kemoterapi rejimleri arasında Xelox, FOLFOX, FOLFIRI, Xeloda, Xeloda+irinotekan, gemsitabin+sisplatin, gemsitabin+nabpaktitaksel, gemsitabin+kapasitabin yer almaktadır. Bir hasta ise neoadjuvan gemsitabin+radyoterapi almıştır.

Dosyalardaki nüks, metastaz bilgilerine bakıldığında 5 hastada lokal nüks, 8 hastada akciğer metastazı, 5 hastada karaciğer metastazı, 1 hastada periton metastazı , 1 hastada da barsak metastazı saptanmıştır. Üç hastada nüks veya metastaz saptanmamıştır. Adjuvan kemoterapi bitiş tarihinden nüks/metastaz görülme tarihine kadar olan vakit ortalama 8,5 aydır. Nüks/metastaz görülen hastaların ortalama sağkalımı 21 aydır. Nüks ya da progresyon görülmeyen 3 vakanın sağkalımı sırasıyla 75, 53, 22 aydır.

Dosyasına ulaşılan 24 hastanın 6'sı hayattadır. Altı hastanın 1'i neoadjuvan gemsitabin+radyoterapi tedavisi almıştır. Tüm hastalar adjuvan gemsitabin tedavisi almıştır. Üç hasta adjuvan radyoterapi almıştır. Bir hastada lokal nüks, 2 hastada akciğer metastazı, 1 hastada karaciğer metastazı, 1 hastada barsak seroza metastazı saptanmıştır. İki hastada nüks/metastaz saptanmamıştır ve sağkalımları sırasıyla 53 ve 22 aydır.

4.2.2. Patolojik Bulgular (Tablo 6)

Tümör çapları 1 ile 7 cm arasında değişmekte olup, ortalama 3.54 ± 1.17 cm'dir. Tümörlerin %9.2'si (n=7) grade 1, %67.1'i (n=51) grade 2 ve %23.7'si (n=18) grade 3'tür. Tümörlerin %88.2'si (n=67) pankreas başı, %11.8'i (n=9) ise distal pankreas yerleşimlidir.

AJCC 2010'a göre T evreleri incelendiğinde; olguların %2.6'sının (n=2) T1, %7.9'unun (n=6) T2, %85.6'sının (n=65) T3 ve %3.9'unun (n=3) T4 olduğu görülmektedir. AJCC 2017'ye göre T evreleri incelendiğinde ise; olguların %7.9'unun (n=6) T1, %53.9'unun (n=41) T2, %34.3'ünün (n=26) T3 ve %3.9'unun (n=3) T4 olduğu görülmektedir.

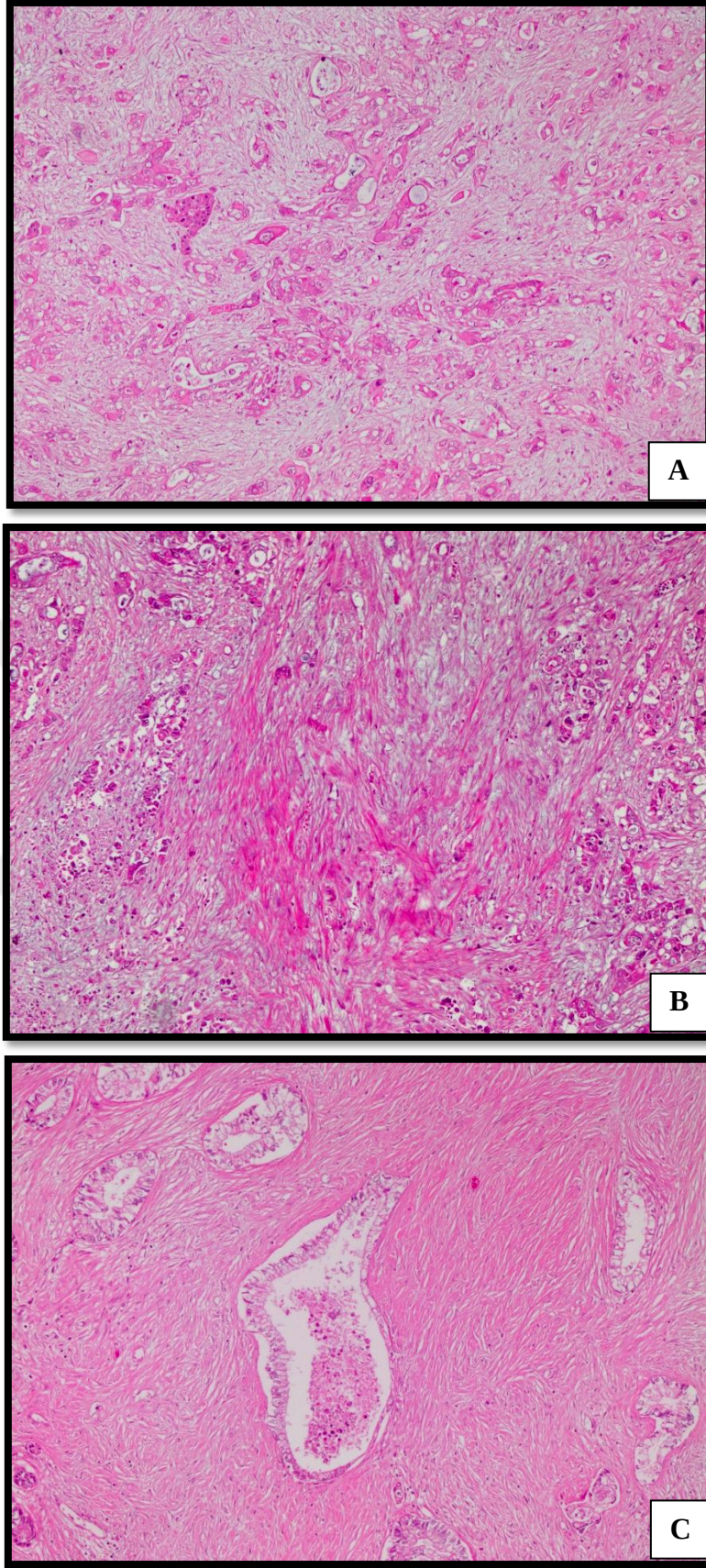
AJCC 2010'a göre N evreleri incelendiğinde; olguların %23.7'sinin (n=10) N0, %73.7'sinin (n=56) N1 olduğu ve %2.6'sının (n=2) Nx olduğu görülmektedir. AJCC 2017'ye göre N evreleri incelendiğinde ise; olguların %23.7'sinin (n=18) N0, %30.0'unun (n=22) N1, %44.7'sinin (n=34) N2 olduğu ve %2.6'sının (n=2) Nx olduğu görülmektedir.

Olguların %26.3'ünde (n=20) pozitif lenf nodu bulunmazken, %73.7'sinde (n=56) lenf nodu metastazı görülmektedir; bu olguların pozitif lenf nodu sayıları 1 ile 26 arasında değişmekte olup, ortalama 5.63 ± 5.00 'dir.

Olguların %89.5'inde (n=68) lenfatik invazyon, %69.7'sinde (n=53) anjiyoinvazyon ve %96.1'inde (n=78) perinöral invazyon görülmektedir.

Cerrahi sınırlar ve serbest yüzeyler incelendiğinde; %47.4'ü (n=36) R0 iken, %52.6'sı (n=40) R1'dir. Pozitif olan yüzey ve cerrahi sınırlar incelendiğinde, birçok vakada birden fazla noktada pozitiflik olduğu dikkati çekmiştir. Pozitif yüzey ve cerrahi sınırlardan %50'si (n=20) retroperiton cerrahi sınır, %42.5'i (n=17) vasküler yatak serbest yüzey, %15'i (n=6) distal pankreas cerrahi sınır, %15'i (n=6) proksimal pankreas cerrahi sınır, %15'i (n=6) anterior serbest yüzey, %5'i (n=2) posterior serbest yüzeydir.

Dominant stromal patern incelendiğinde; %90.8'inin (n=69) matür, %7.9'unun (n=6) miksoid ve %1.3'ünün (n=1) keloid olduğu görülmektedir (**Tablo 6**)(**Şekil 18**).



Şekil 18. Stromal paternler; A,B ve C; A, Mikroid (Hafif); B, Keloid (Orta); C, Matür (Kuvvetli) (MÜTF/ H&E, 100x)

Tablo 6. Patolojik Bulgular

<i>Klinikopatolojik Bulgular</i>		
Tümör çapı (cm)	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	1-7 (3.5)
	<i>Ort±ss</i>	3.54±1.17
Grade; n (%)	Grade 1	7 (9.2)
	Grade 2	51 (67.1)
	Grade 3	18 (23.7)
Tümör yerleşim yeri; n (%)	Pankreas başı	67 (88.2)
	Distal pankreas	9 (11.8)
T (AJCC 2010)	T1	2 (2.6)
	T2	6 (7.9)
	T3	65 (85.6)
	T4	3 (3.9)
T (AJCC 2017)	T1	6 (7.9)
	T2	41 (53.9)
	T3	26 (34.3)
	T4	3 (3.9)
N (AJCC 2010)	N0	18 (23.7)
	N1	56 (73.7)
	NX	2 (2.6)
N (AJCC 2017)	N0	18 (23.7)
	N1	22 (30.0)
	N2	34 (44.7)
	NX	2 (2.6)
Pozitif lenf nodu	Yok	20 (26.3)
	Var	56 (73.7)
Pozitif lenf nodu sayısı (n=56)	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	1-26 (5)
	<i>Ort±ss</i>	5.63±5.00
Lenfatik invazyon	Yok	8 (10.5)
	Var	68 (89.5)
Anjiyo invazyon	Yok	23 (30.3)
	Var	53 (69.7)
Perinöral invazyon	Yok	3 (3.9)
	Var	73 (96.1)
Cerrahi sınır (R0/R1)	R0	36 (47.4)
	R1	40 (52.6)
Dominant stromal patern	Matür	69 (90.8)
	Miksoid	6 (7.9)
	Keloid	1 (1.3)

4.3. İmmünohistokimya (İHK) Bulguları

Tüm İHK boyanma skorlarının oranları aşağıdaki gibidir (Tablo 7) :

Tablo 7. İmmünohistokimya Bulguları

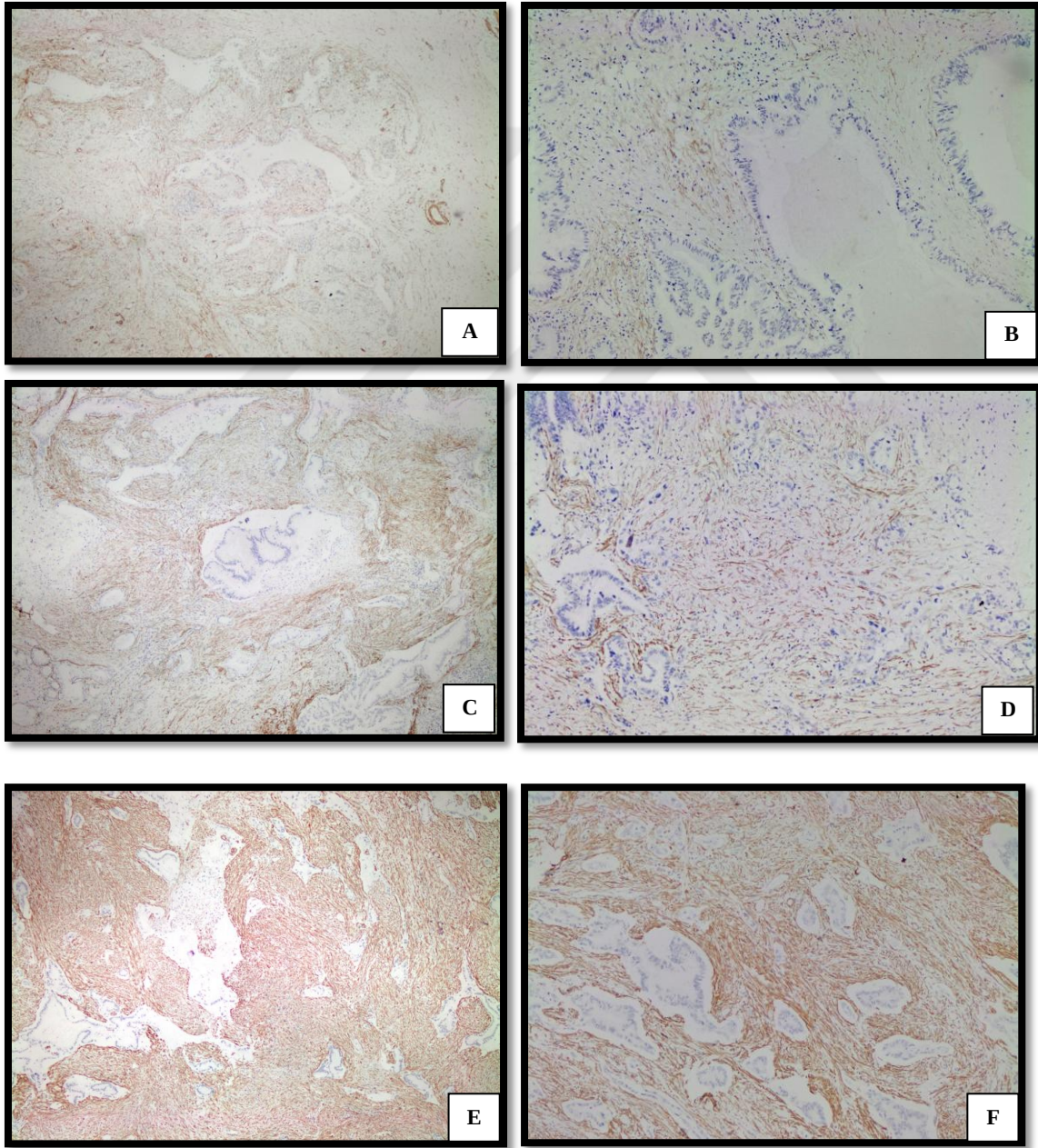
n (%)				n (%)			
SMA stroma	Yaygınlık	1	1 (1.3)	Kollajen4 stroma	Yaygınlık	1	16 (21.1)
		2	16 (21.1)			2	39 (51.3)
		3	59 (77.6)			3	21 (27.6)
	Yoğunluk	1	1 (1.3)		Yoğunluk	1	22 (29.0)
		2	13 (17.1)			2	27 (35.5)
		3	62 (81.6)			3	27 (35.5)
	Toplam skor	Düşük	2 (2.6)		Toplam skor	Düşük	29 (38.2)
		Orta	21 (27.7)			Orta	32 (42.1)
		Yüksek	53 (69.7)			Yüksek	15 (19.7)
SPARC tümör (n=75)	Yaygınlık	0	2 (2.7)	SPARC stroma (n=75)	Yaygınlık	0	1 (1.3)
		1	0			1	2 (2.7)
		2	0			2	8 (10.7)
		3	73 (96.1)			3	64 (85.3)
	Yoğunluk	0	2 (2.7)		Yoğunluk	0	1 (1.3)
		1	2 (2.7)			1	3 (4.0)
		2	29 (38.7)			2	26 (34.7)
		3	42 (56.0)			3	45 (60.0)
	Toplam skor	Negatif	2 (2.7)		Toplam skor	Negatif	1 (1.3)
		Düşük	0			Düşük	4 (5.3)
		Orta	31 (41.3)			Orta	26 (34.7)
		Yüksek	42 (56.0)			Yüksek	44 (58.7)
VEGF tümör	Yaygınlık	0	2 (2.6)	VEGF stroma	Yaygınlık	0	2 (2.6)
		1	1 (1.3)			1	6 (7.9)
		2	2 (2.7)			2	24 (31.6)
		3	71 (93.4)			3	44 (57.9)
	Yoğunluk	0	2 (2.6)		Yoğunluk	0	2 (2.6)
		1	4 (5.3)			1	1 (1.3)
		2	28 (36.8)			2	17 (22.4)
		3	42 (55.3)			3	56 (73.7)
	Toplam skor	Negatif	2 (2.6)		Toplam skor	Negatif	2 (2.6)
		Düşük	2 (2.6)			Düşük	4 (5.3)
		Orta	30 (39.5)			Orta	30 (39.5)
		Yüksek	42 (55.3)			Yüksek	40 (52.6)
Galektin1 tümör	Yaygınlık	0	22 (28.9)	Galektin1 stroma	Yaygınlık	0	28 (36.8)
		1	23 (30.3)			1	26 (34.3)
		2	27 (35.5)			2	22 (28.9)
		3	4 (5.3)			3	0
	Yoğunluk	0	16 (21.1)		Yoğunluk	0	19 (25.0)
		1	31 (40.8)			1	42 (55.3)
		2	21 (27.6)			2	13 (17.1)
		3	8 (10.5)			3	2 (2.6)
	Toplam skor	Negatif	22 (28.9)		Toplam skor	Negatif	27 (35.5)
		Düşük	30 (39.5)			Düşük	37 (48.7)
		Yüksek	24 (31.6)			Yüksek	12 (15.8)

4.3.1. SMA (α -Smooth muscle Actin) İmmünohistokimya Bulguları

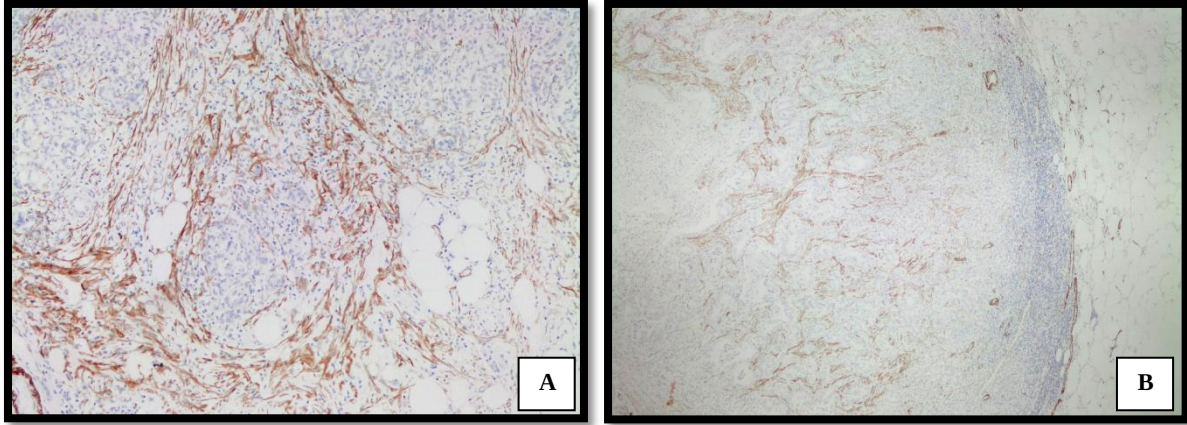
SMA İHK boyası sadece stromal hücrelerde sitoplazmik olarak boyanmıştır. Stromada kollajen benzeri aselüler lifsi proteinöz yapılarda da boyanma görülmüştür.

SMA stromal boyanma skorları incelendiğinde; %2.6'sının (n=2) düşük, %27.7'sinin (n=21) orta ve %69.7'sinin (n=53) yüksek olduğu görülmektedir (**Şekil 19**) .

Bazı olgularda α -SMA'nın glandüler komponentin fazla olduğu yerlerde daha yoğun periglandüler ve perilobüler boyandığı dikkati çekmiştir. Bazı olgularda kronik pankreatit alanında kuvvetli boyanma dikkati çekmiştir. Lenf nodu metastazı olan olgularda SMA metastatik lenf nodunda da peritümöral boyanmıştır (**Şekil 20**) .



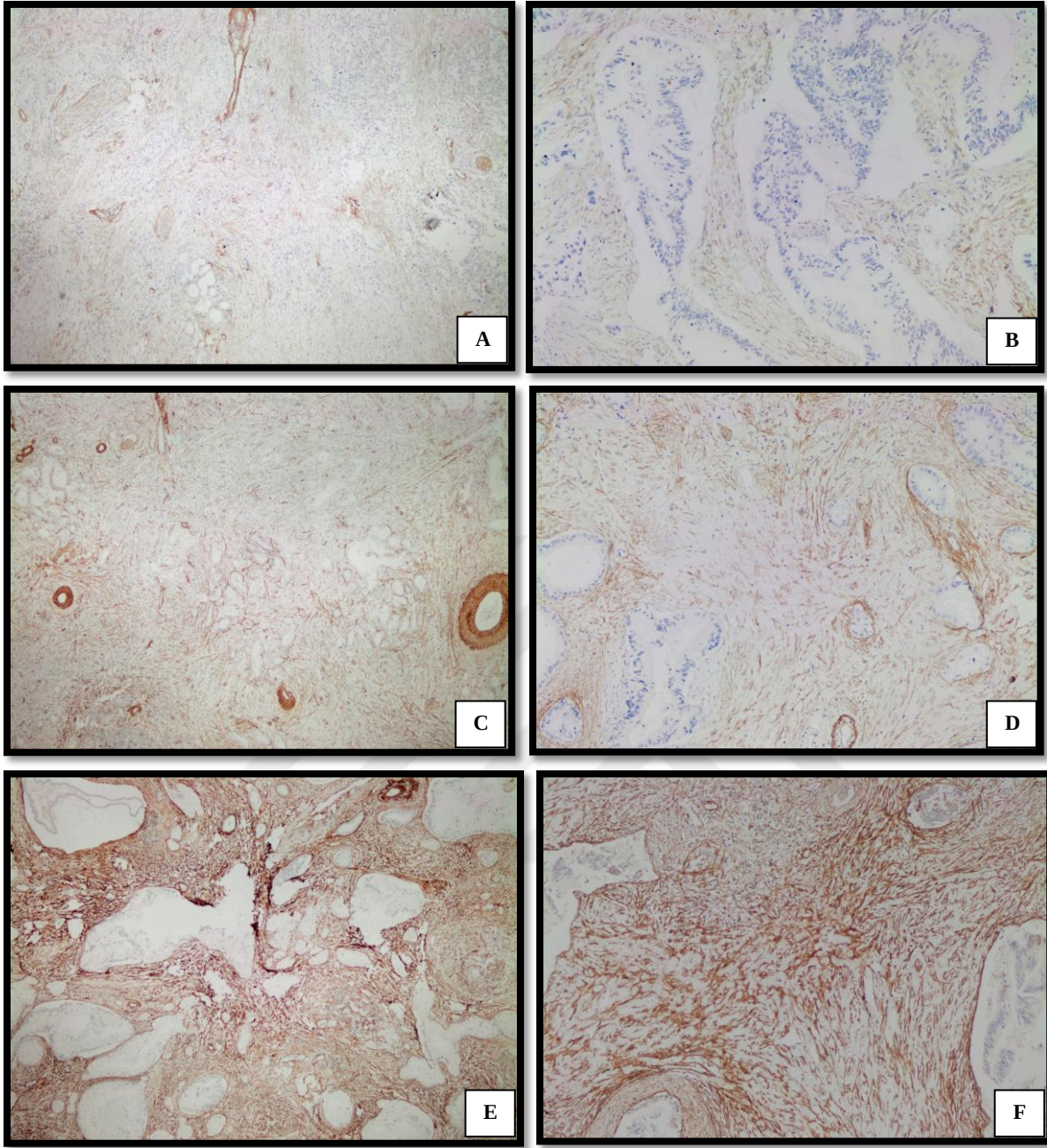
Şekil 19. SMA İHK boyanma dağılımları; A,B: Düşük (40x,100x) C,D: Orta (40x,100x) ve E,F:Yüksek (40x, 100x)



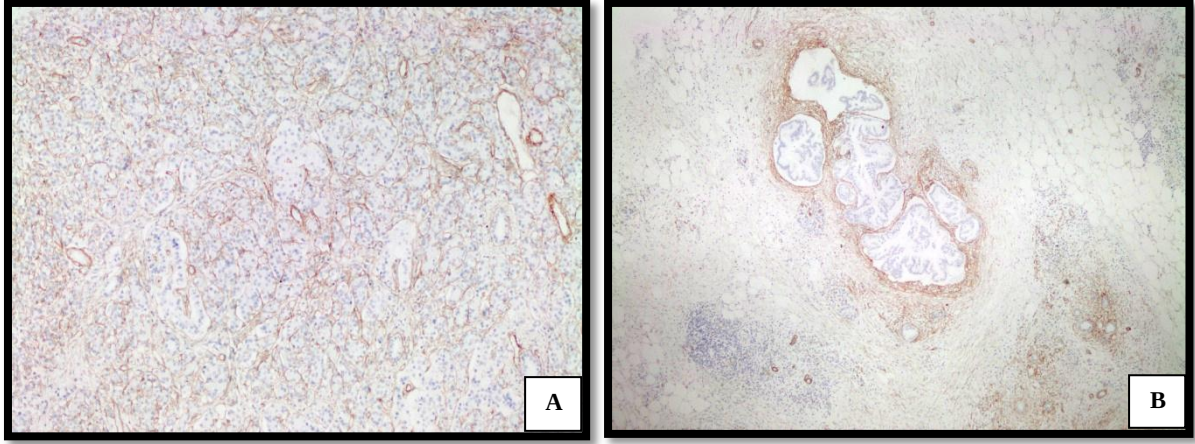
Şekil 20. A: Kronik pankreatit SMA boyanması (100x) **B:** Lenf nodu metastazı SMA boyanması (40x)

4.3.2. Kollajen Tip 4 İmmünohistokimya Bulguları

Kollajen Tip 4 yalnızca stromada sitoplazmik olarak boyanmıştır. Stromada kollajen benzeri aselüler lifsi proteinöz yapılarda da boyanma görülmüştür. Çevre pankreasta asiner ve duktal yapıları çerçeve gibi sardığı dikkati çekmiştir. PanİN odaklarının çevresinde yoğun bazal membran tarzı boyanma görülmüştür. Kollajen 4 stroma boyanma skorları incelendiğinde; %38.2'sinin (n=29) düşük, %42.1'inin (n=32) orta ve %19.7'sinin (n=15) yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 21 ve 22) .



Şekil 21. Kollajen 4 İHK boyanma dağılımları; A,B: Düşük (40x,100x), C,D: Orta (40x,100x) ve E,F: Yüksek (40x, 100x)



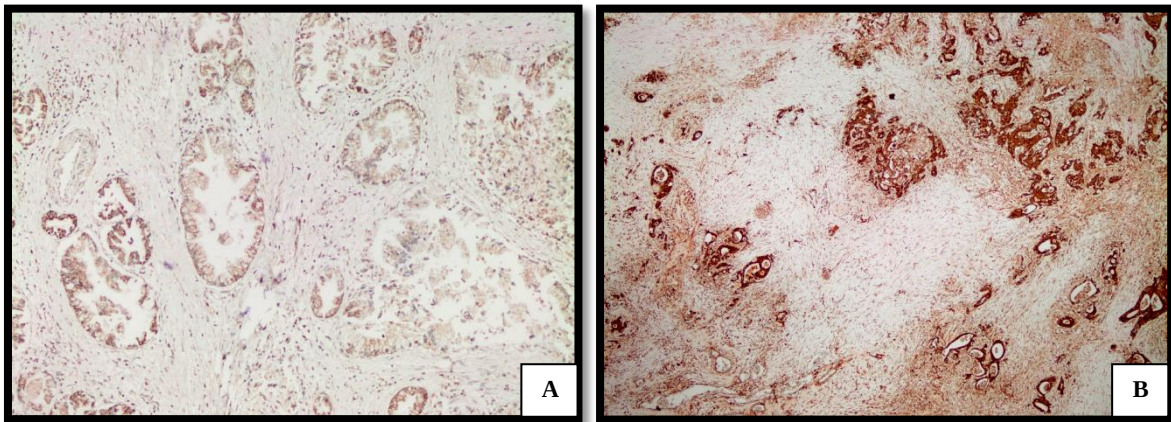
Şekil 22. A: Kollajen 4, çevre pankreas (100x), **B:** Kollajen 4, PanİN çevresi (100x)

4.3.3. SPARC İmmünohistokimya Bulguları

SPARC hem tümör hücrelerinde hem de stromada sitoplazmik granüler boyanmıştır.

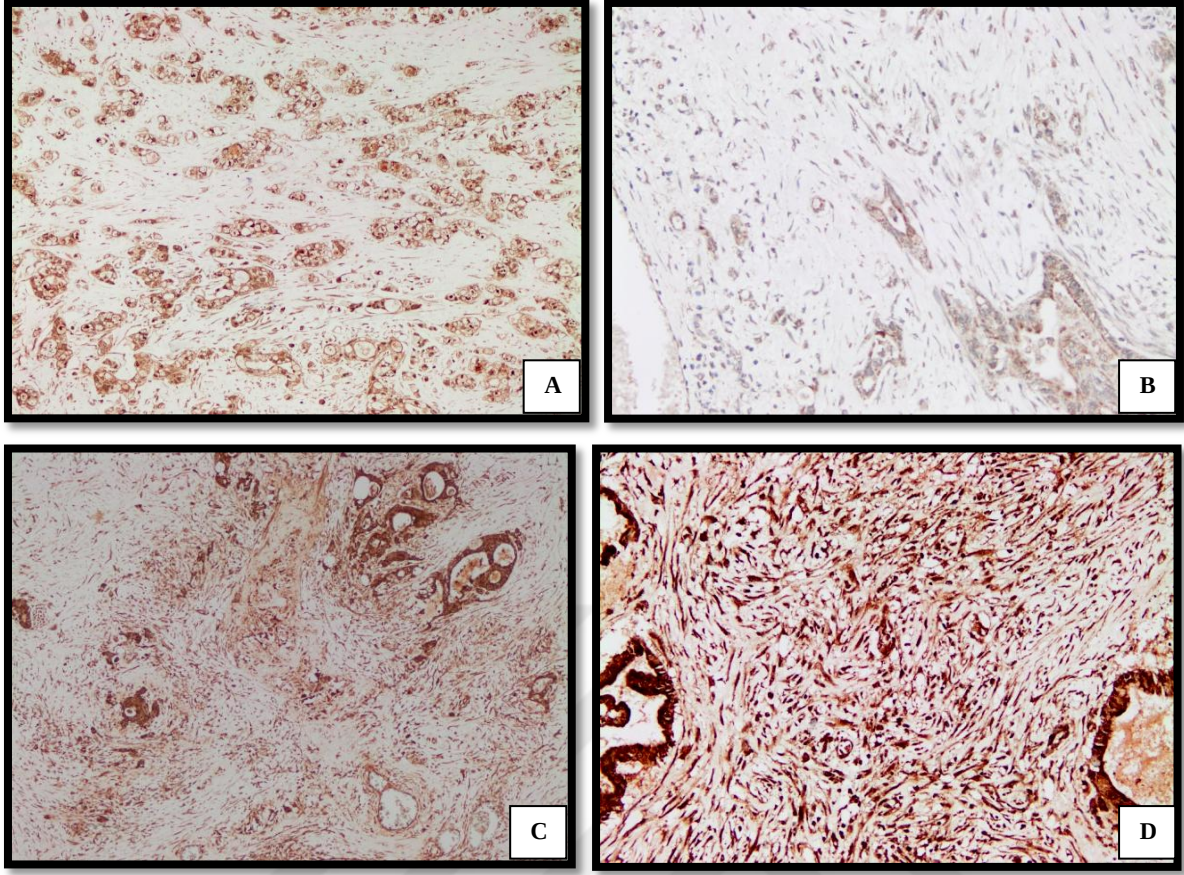
SPARC tümör boyanma skorları incelendiğinde; %2.7'sinin (n=2) negatif, %41.3'ünün (n=31) orta ve %56'sının (n=42) yüksek olduğu görülmektedir. Tümör boyanmaları incelendiğinde berrak/köpüksü hücreli PDAK'larda daha hafif bir boyanma dikkati çekmiştir (**Şekil 23**) .

SPARC stromal boyanma skorları incelendiğinde; %1.3'ünün (n=1) negatif, %5.3'ünün (n=4) düşük, %34.7'sinin (n=26) orta ve %58.7'sinin (n=44) yüksek olduğu görülmektedir (**Şekil 24**) .



Şekil 23. SPARC İHK boyanma dağılımları (Tümör) ; A ve B; A: Orta , B: Yüksek (100x)

(Bu örneklerde stromada da orta derecede boyanma mevcuttur.)

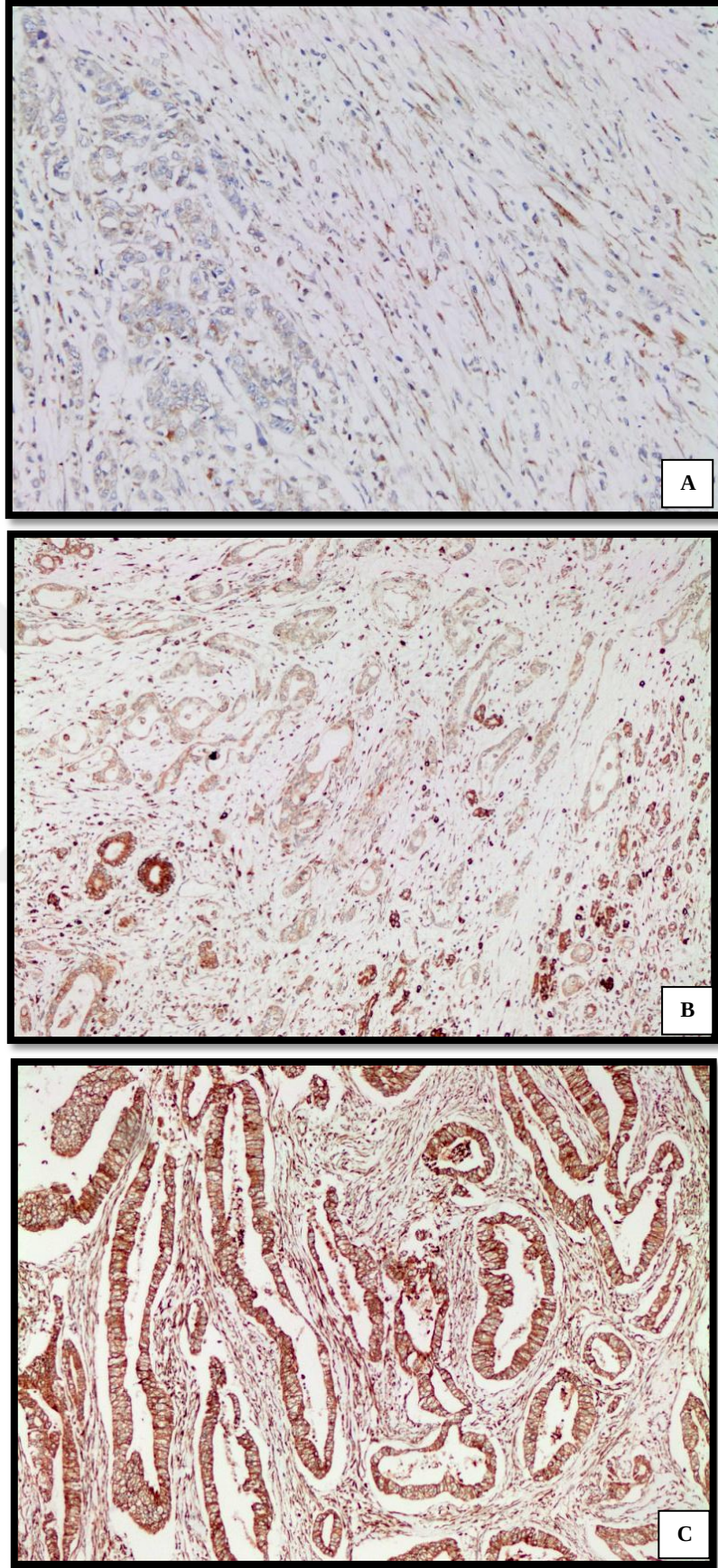


Şekil 24. SPARC İHK boyanma dağılımları (Stroma) ; A, B: Orta (100x, 200x) , C, D: Yüksek (100x, 200x) (Bu örneklerde tümörde de orta ve yüksek derecede boyanma mevcuttur)

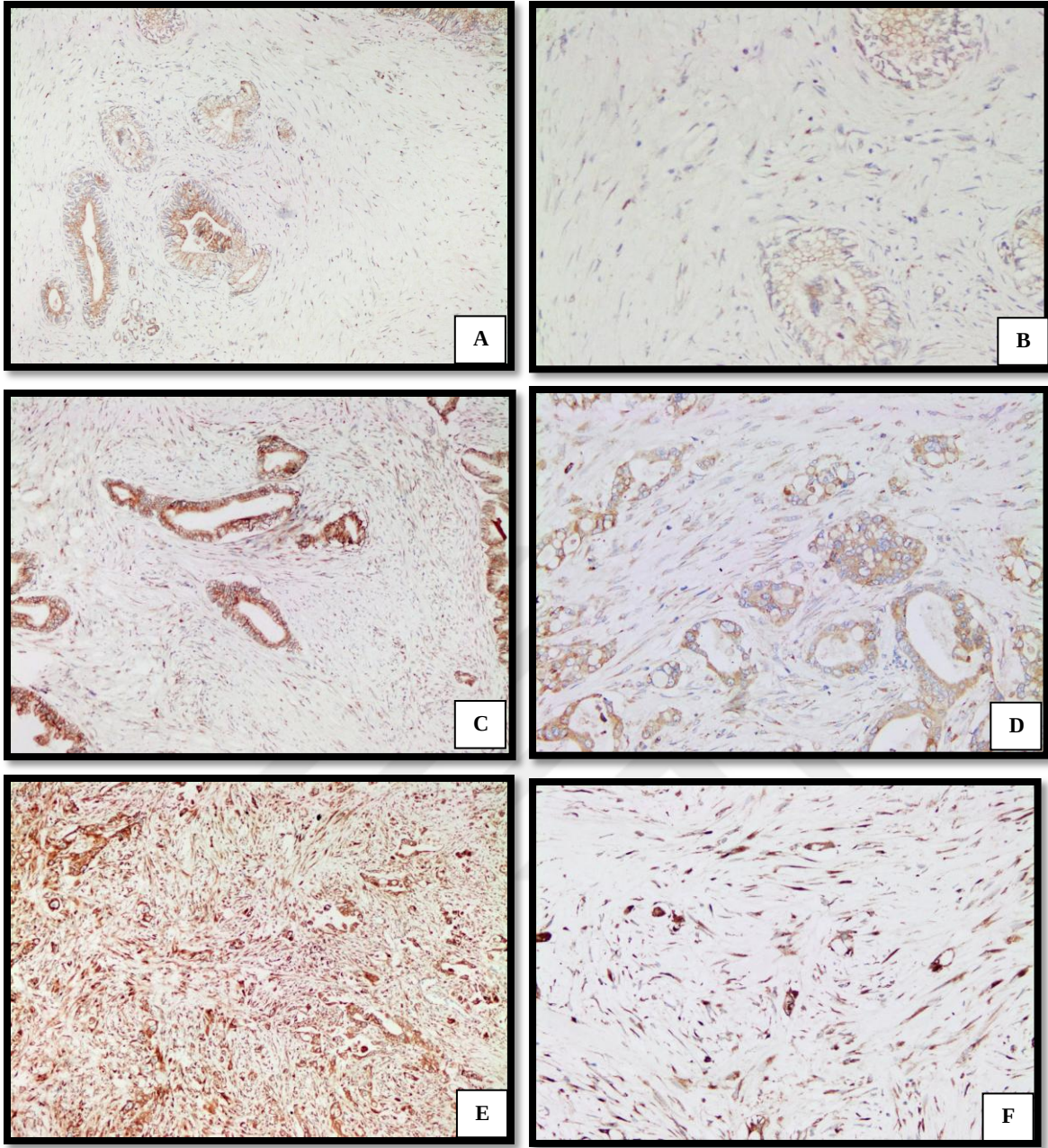
4.3.4. VEGF İmmünohistokimya Bulguları

VEGF hem tümör hücreleri hem de stromal hücrelerde sitoplazmik membranöz olarak boyanmıştır.

VEGF tümör boyanma skorları incelendiğinde; %2.6'sının (n=2) negatif, %2.6'sının (n=2) düşük, %39.5'inin (n=30) orta ve %55.3'ünün (n=42) yüksek olduğu görülmektedir. VEGF stromal boyanma skorları incelendiğinde; %2.6'sının (n=2) negatif, %5.3'ünün (n=4) düşük, %39.5'inin (n=30) orta ve %52.6'sının (n=40) yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 25 ve 26) .

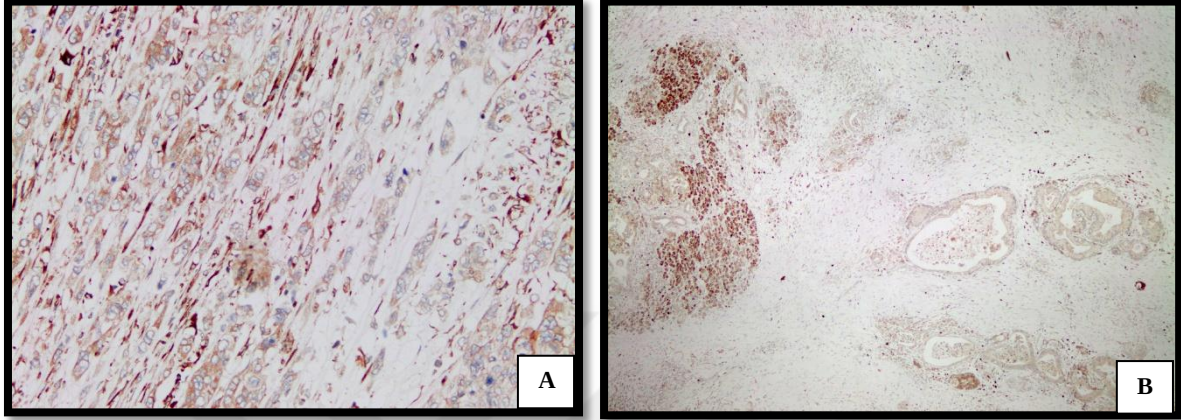


Şekil 25. VEGF İHK boyanma dağılımları (Tümör) ; A, B ve C; A: Düşük (200x), B: Orta (100x) , C: Yüksek (100x)



Şekil 26. VEGF İHK boyanma dağılımları (Stroma) ; A, B: Düşük (100x, 200x), C, D:Orta (100x, 200x) ve E,F: Yüksek (100x, 200x)

Çevre asiner hücrelerde ve Langerhans adalarında da kuvvetli boyanma saptanmıştır. Selüler tümörlerde VEGF stroma boyanmasının tümöre göre daha kuvvetli olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 27) .

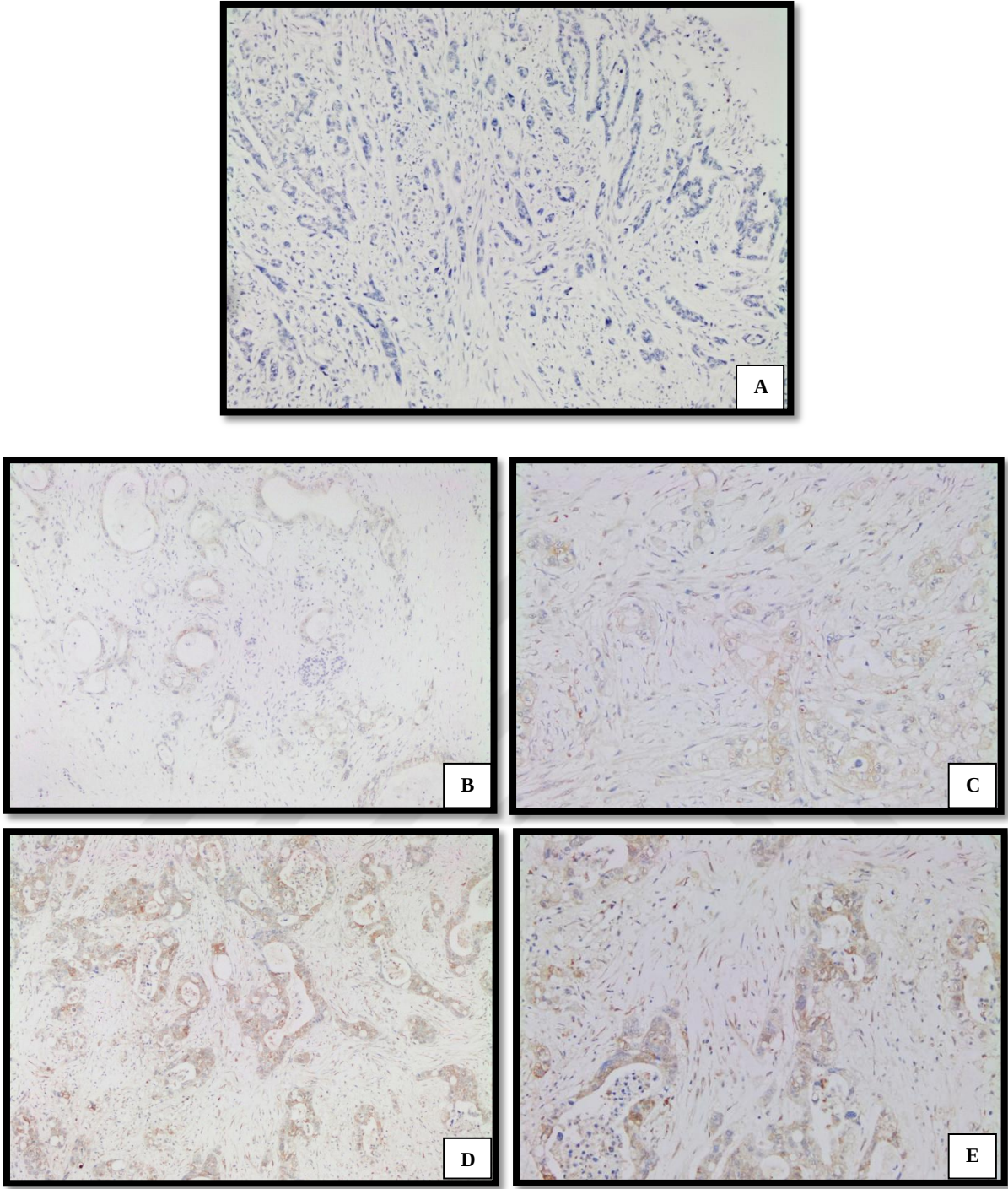


Şekil 27. A: Selüler tümör stromasında tümörden daha yoğun VEGF boyanması (200x), **B:** Çevre asiner yapılarda kuvvetli boyanma (40x)

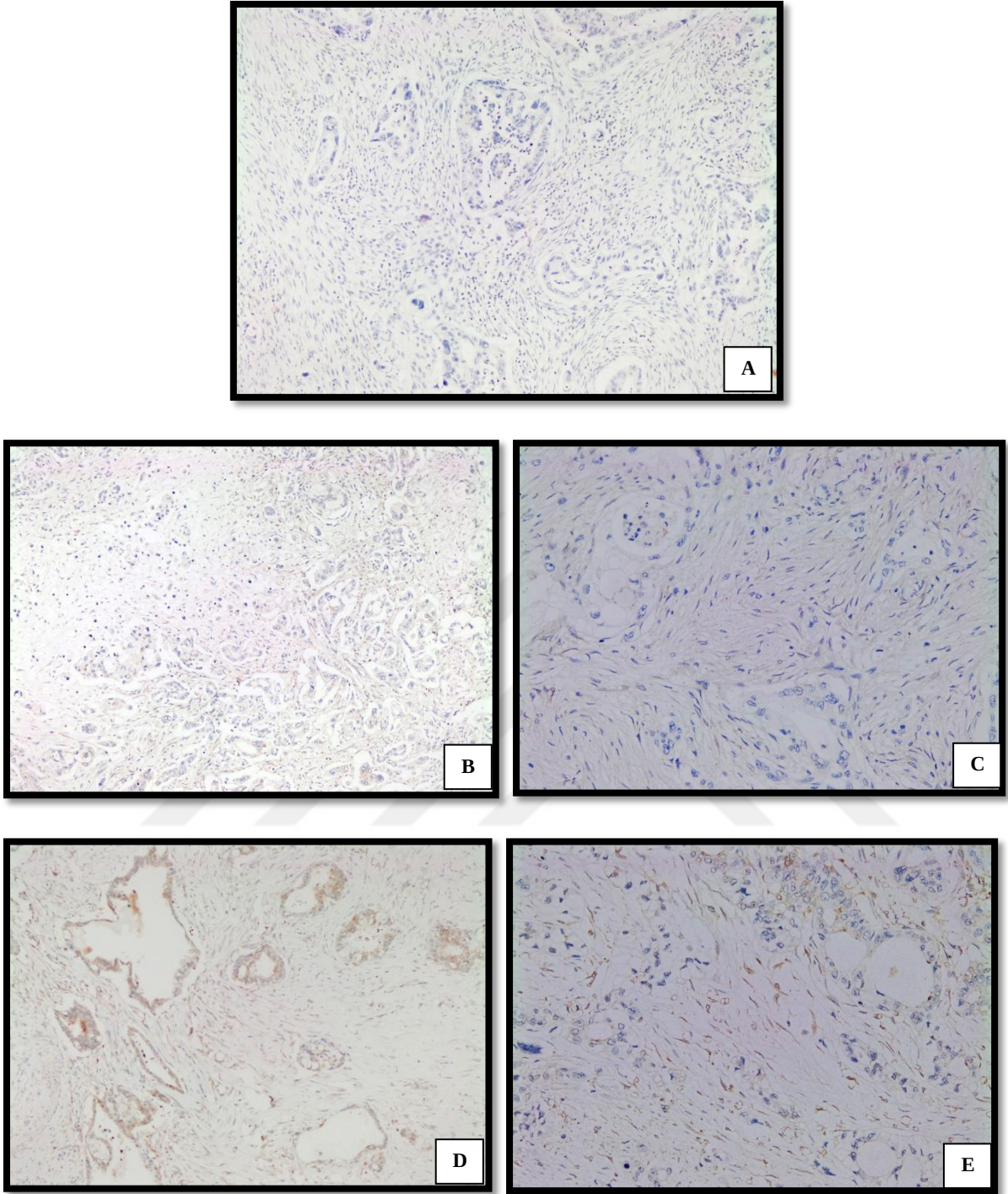
4.3.5. Galektin 1 İmmünohistokimya Bulguları

Galektin 1 diğer boyalardan çok daha hafif bir boyanma göstermiştir. Hem tümör hücrelerinde hem de stromada sitoplazmik boyanma saptanmıştır.

Galektin 1 tümör boyanma skorları incelendiğinde; %28.9'unun (n=22) negatif, %39.5'inin (n=30) düşük ve %31.6'sının (n=24) yüksek olduğu görülmektedir. Galektin 1 stromal boyanma skorları incelendiğinde; %35.5'inin (n=27) negatif, %48.7'sinin (n=37) düşük ve %15.8'inin (n=12) yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 28 ve 29) .



Şekil 28. Galektin-1 İHK boyanma dağılımları (Tümör) ; A: Negatif (100x) , B,C: Düşük (100x, 200x) ve D,E : Yüksek (100x, 200x)



Şekil 29. Galektin-1 İHK boyanma dağılımları (Stroma) ; A: Negatif (100x) , B, C: Düşük (100x, 200x) ve D,E: Yüksek (100x, 200x)

4.4. Demografik , Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulguların Toplam Sağkalım ile İlişkisi

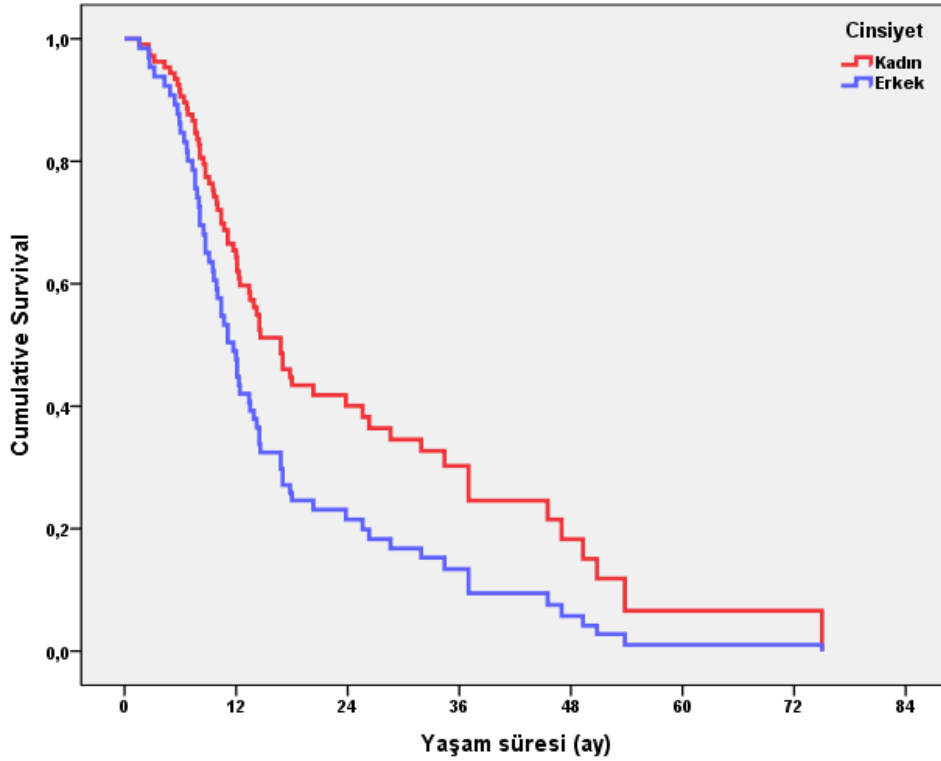
Demografik , histopatolojik ve immünohistokimyasal bulguların toplam sağkalım ile ilişkisini gösteren tablo aşağıdaki gibidir (**Tablo 8**) :

Tablo 8. Demografik , Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulguların Toplam Sağkalım ile İlişkisi

	Beta	Wald	p	HR	%95 Güven Aralığı	
					Alt limit	Üst limit
Yaş (>65)	0.017	0.005	0.945	1.017	0.621	1.668
Cinsiyet (erkek)	0.519	3.854	0.050*	1.681	1.001	2.823
Grade		7.858	0.020*			
Grade (1)	-1.194	5.079	0.024*	0.303	0.107	0.856
Grade (2)	-0.760	6.272	0.012*	0.468	0.258	0.848
Tümör çapı (>4 cm)	0.266	0.833	0.362	1.304	0.737	2.309
Pozitif lenf nodu (var)	0.224	0.611	0.434	1.251	0.713	2.196
AJCC T 2010		4.220	0.239			
AJCC T 2010 (T2)	0.772	0.510	0.475	2.163	0.260	18.004
AJCC T 2010 (T3)	0.763	0.568	0.451	2.144	0.295	15.588
AJCC T 2010 (T4)	1.907	2.686	0.101	6.736	0.688	65.923
AJCC T 2017 (T3 + T4)	0.384	2.262	0.133	1.468	0.890	2.421
AJCC N 2010 (N1)	0.325	1.161	0.281	1.384	0.766	2.498
AJCC N 2017		1.740	0.419			
AJCC N 2017 (N1)	0.117	0.118	0.732	1.124	0.575	2.197
AJCC N 2017 (N2)	0.395	1.511	0.219	1.484	0.791	2.786
Lenfatik invazyon (var)	0.323	0.637	0.425	1.382	0.625	3.056
Anjiyo invazyon (var)	0.491	3.086	0.079	1.634	0.945	2.825
Perinöral invazyon (var)	2.012	3.931	0.047*	7.478	1.023	54.642
Cerrahi sınır (R1)	0.614	5.870	0.015*	1.849	1.125	3.039
SMA (yüksek)	-0.006	0.001	0.982	0.994	0.588	1.679
Kollajen 4		2.448	0.294			
Kollajen 4 (orta)	-0.259	0.841	0.359	0.772	0.444	1.343
Kollajen 4 (yüksek)	-0.519	2.321	0.128	0.595	0.305	1.160
SPARC tümör (yüksek)	-0.171	0.460	0.498	0.843	0.514	1.382
SPARC stroma (yüksek)	-0.205	0.656	0.418	0.814	0.495	1.339
VEGF tümör (yüksek)	0.173	0.480	0.489	1.89	0.729	1.940
VEGF stroma (yüksek)	0.110	0.198	0.656	1.117	0.687	1.814
Galektin 1 tümör		0.689	0.708			
Galektin 1 tümör (düşük)	0.115	0.140	0.708	1.122	0.614	2.050
Galektin 1 tümör (yüksek)	-0.135	0.185	0.667	0.874	0.473	1.615
Galektin 1 stroma		4.673	0.097			
Galektin 1 stroma (düşük)	-0.289	1.159	0.282	0.749	0.443	1.267
Galektin 1 stroma (yüksek)	-0.880	4.595	0.032	0.415	0.185	0.927
Dominant stromal pattern		1.188	0.552			
Dominant stromal pattern (miksoid)	0.244	0.318	0.573	1.276	0.547	2.975
Dominant stromal pattern (keloid)	0.977	0.914	0.339	2.656	0.359	19.683

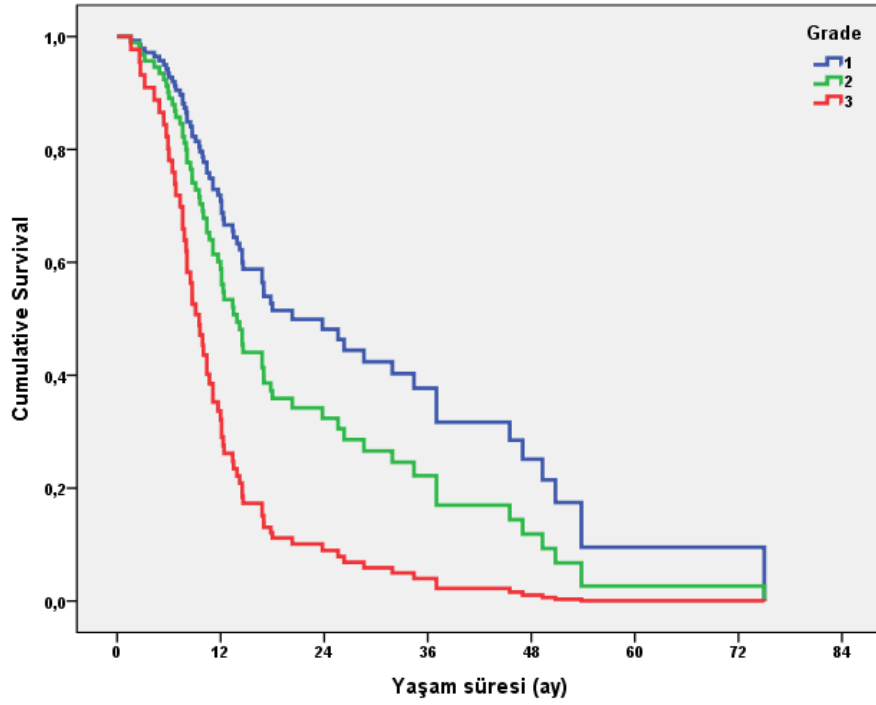
Olguların **yaşlarının** sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olguların **cinsiyetlerinin** sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi olduğu saptanmıştır. Erkeklerde ölüm görülme oranının kadınların 1.681 katı (%68.1 daha fazla) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 1.681 (1.001, 2.823), $p:0.050$]. (Şekil 30) .



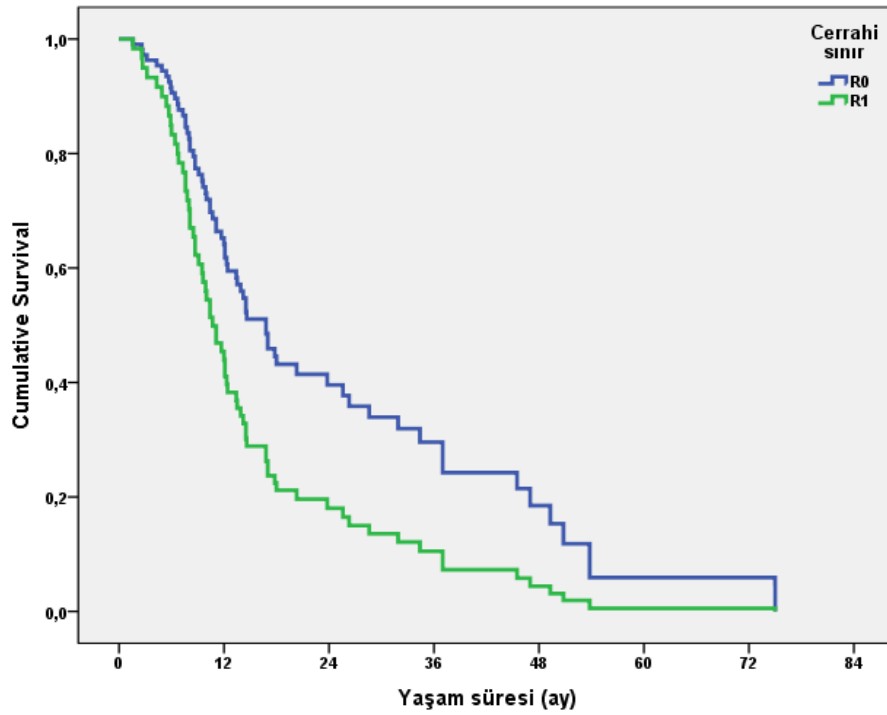
Şekil 30. Cinsiyete göre yaşam süresi ve sağkalım oranları

Olguların **gradelerinin** sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi olduğu saptanmıştır ($p:0.020$). Grade 3 olanlar referans olarak alındığında, grade 1 olanlarda ölüm oranının 0.303 katı (%69.7 daha az) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 0.303 (0.107, 0.856), $p:0.024$]; grade 2 olanlarda ise ölüm oranının 0.468 katı (%53.2 daha az) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 0.468 (0.258, 0.848), $p:0.012$] (Şekil 31) .



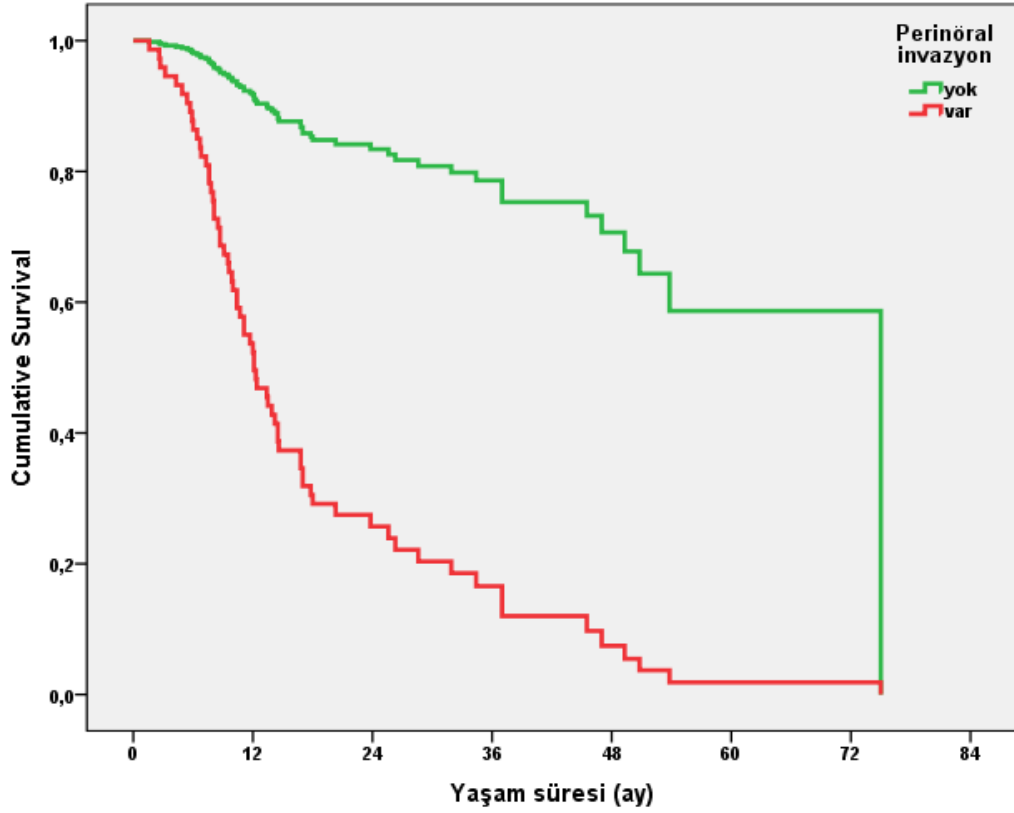
Şekil 31. Grade'e göre yaşam süresi ve sağkalım oranları

Olguların **cerrahi sınırının** sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi olduğu saptanmıştır. Cerrahi sınırı R1 olanlarda ölüm görülme oranının cerrahi sınırı R0 olanların 1.849 katı (%84.9 daha fazla) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 1.849 (1.125, 3.039), p:0.015] (Şekil 32) .



Şekil 32. Cerrahi sınıra göre yaşam süresi ve sağkalım oranları

Olgularda **perinöral invazyon** varlığının sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmıştır. Perinöral invazyon olanlarda ölüm görülme oranının cerrahi sınırı perinöral invazyon olmayanların 7.478 katı (%647.8 daha fazla) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 2.012 (1.023, 54.642), p:0.047] (**Şekil 33**) .



Şekil 33. Perinöral invazyona göre yaşam süresi ve sağkalım oranları

Olguların **tümör çapının** sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olgularda **pozitif lenf nodu** varlığının sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olguların **AJCC 2010 T** sınıflamasının sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olguların **AJCC 2017 T** sınıflamasının sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olguların **AJCC 2010 N** sınıflamasının sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olguların **AJCC 2017 N** sınıflamasının sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olgularda **lenfatik invazyon** varlığının sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olgularda **anjiyo invazyon** varlığının sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olguların **SMA (stroma)** düzeyinin sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olguların **kollajen 4** düzeyinin sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olguların **SPARC (tümör)** düzeyinin sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$). Olguların **SPARC (stroma)** düzeyinin sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olguların **VEGF (tümör)** düzeyinin sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$). Olguların **VEGF (stroma)** düzeyinin sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

Olguların **galektin 1 (tümör)** düzeyinin sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$). Olguların **galektin 1 (stroma)** düzeyinin sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$). Ancak stromada Galektin 1 boyanma düzeyi yüksek olan vakaların negatif olanlara göre sağkalımı anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır [HR (%95 GA): 0.415 (0.185, 0.927), $p:0.032$].

Olguların **dominant stromal paternin** sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi saptanmamıştır ($p>0.05$).

4.5. SMA İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi

SMA boyanma düzeylerinin diğer parametrelerle ilişkisi aşağıdaki gibidir (**Tablo 9**) :

Tablo 9. SMA'nın diğer parametrelerle ilişkisi

		SMA		χ^2	p
		Düşük + Orta n (%)	Yüksek n (%)		
Tümör çapı	≤4 cm	17 (29.3)	41 (70.7)	0.105	^a 0.746
	>4 cm	6 (33.3)	12 (66.7)		
Pozitif lenf nodu	Yok	7 (35)	13 (65)	0.289	^a 0.591
	Var	16 (28.6)	40 (71.4)		
AJCC 2017 T	T1 + T2	15 (31.9)	32 (68.1)	0.159	^a 0.690
	T3 + T4	8 (27.6)	21 (72.4)		
AJCC 2017 N	N0	7 (36.8)	12 (63.2)	3.051	^a 0.218
	N1	9 (40.9)	13 (59.1)		
	N2	7 (20.6)	27 (79.4)		
Lenfatik invazyon	Yok	3 (37.5)	5 (62.5)	0.222	^b 0.692
	Var	20 (29.4)	48 (70.6)		
Anjiyo invazyon	Yok	12 (52.2)	11 (47.8)	7.502	^a 0.006**
	Var	11 (20.8)	42 (79.2)		
Perinöral invazyon	Yok	2 (66.7)	1 (33.3)	1.961	^b 0.216
	Var	21 (28.8)	52 (71.2)		
Cerrahi sınır	R0	11 (30.6)	25 (69.4)	0.003	^a 0.958
	R1	12 (30)	28 (70)		

^aPearson ki-kare test

^bFisher exact test

Tümör çapına göre SMA boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Pozitif lenf nodu varlığına göre SMA boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

AJCC 2017 T sınıflamasına göre SMA boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

AJCC 2017 N sınıflamasına göre SMA boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Lenfatik invazyon varlığına göre SMA boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Anjiyo invazyon varlığına göre SMA boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır (p:0.006). Anjiyo invazyon olan olgularda SMA boyanma oranının anjiyo invazyon olmayan olgulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır.

Perinöral invazyon varlığına göre SMA boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Cerrahi sınır pozitifliğine göre SMA boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

4.6. Kollajen 4 İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi

Kollajen 4 boyanma düzeylerinin diğer parametrelerle ilişkisi aşağıdaki gibidir (**Tablo 10**) :

Tablo 10. Kollajen 4'ün diğer parametrelerle ilişkisi

		Kollajen 4			χ^2	p
		Düşük n (%)	Orta n (%)	Yüksek n (%)		
Tümör çapı	≤4 cm	20 (34.5)	26 (44.8)	12 (20.7)	1.411	^a 0.494
	>4 cm	9 (50)	6 (33.3)	3 (16.7)		
Pozitif lenf nodu	Yok	11 (55)	7 (35)	2 (10)	3.647	^a 0.161
	Var	18 (32.1)	25 (44.6)	13 (23.2)		
AJCC 2017 T	T1 + T2	17 (36.2)	21 (44.7)	9 (19.1)	0.343	^a 0.842
	T3 + T4	12 (41.4)	11 (37.9)	6 (20.7)		
AJCC 2017 N	N0	10 (52.6)	7 (36.8)	2 (10.5)	8.068	^c 0.086
	N1	11 (50)	8 (36.4)	3 (13.6)		
	N2	7 (20.6)	17 (50)	10 (29.4)		
Lenfatik invazyon	Yok	3 (37.5)	3 (37.5)	2 (25)	0.426	^b 0.895
	Var	26 (38.2)	29 (42.6)	13 (19.1)		
Anjiyo invazyon	Yok	8 (34.8)	12 (52.2)	3 (13)	1.641	^a 0.440
	Var	21 (39.6)	20 (37.7)	12 (22.6)		
Perinöral invazyon	Yok	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	0.898	^b 0.795
	Var	28 (38.4)	31 (42.5)	14 (19.2)		
Cerrahi sınır	R0	15 (41.7)	14 (38.9)	7 (19.4)	0.392	^a 0.822
	R1	14 (35)	18 (45)	8 (20)		

^aPearson ki-kare test

^bFisher exact test

Tümör çapına göre Kollajen 4 boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Pozitif lenf nodu varlığına göre Kollajen 4 boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

AJCC 2017 T sınıflamasına göre Kollajen 4 boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

AJCC 2017 N sınıflamasına göre Kollajen 4 boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Ancak bu değer anlamlılık sınırına oldukça yakındır ($p: 0.086$).

Lenfatik invazyon varlığına göre Kollajen 4 boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Anjiyo invazyon varlığına göre Kollajen 4 boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Perinöral invazyon varlığına göre Kollajen 4 boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Cerrahi sınır pozitifliğine göre Kollajen 4 boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

4.7. SPARC (tümör) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi

SPARC (tümör) boyanma düzeylerinin diğer parametrelerle ilişkisi aşağıdaki gibidir (**Tablo 11**) :

Tablo 11. SPARC(tümör)'ın diğer parametrelerle ilişkisi

		SPARC tümör		χ^2	p
		Negatif Düşük + Orta n (%)	Yüksek n (%)		
Tümör çapı	≤4 cm	22 (38.6)	35 (61.4)	2.814	^a 0.093
	>4 cm	11 (61.1)	7 (38.9)		
Pozitif lenf nodu	Yok	10 (50)	10 (50)	0.398	^a 0.528
	Var	23 (41.8)	32 (58.2)		
AJCC 2017 T	T1 + T2	14 (30.4)	32 (69.6)	8.885	^a 0.003**
	T3 + T4	19 (65.5)	10 (34.5)		
AJCC 2017 N	N0	10 (52.6)	9 (47.4)	0.681	^a 0.712
	N1	9 (40.9)	13 (59.1)		
	N2	14 (42.4)	19 (57.6)		
Lenfatik invazyon	Yok	3 (37.5)	5 (62.5)	0.154	^b 0.999
	Var	30 (44.8)	37 (55.2)		
Anjiyo invazyon	Yok	9 (39.1)	14 (60.9)	0.319	^a 0.572
	Var	24 (46.2)	28 (53.8)		
Perinöral invazyon	Yok	0 (0)	3 (100)	2.455	^b 0.251
	Var	33 (45.8)	39 (54.2)		
Cerrahi sınır	R0	15 (41.7)	21 (58.3)	0.153	^a 0.696
	R1	18 (46.2)	21 (53.8)		

^aPearson ki-kare test

^bFisher exact test

Tümör çapına göre SPARC (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Pozitif lenf nodu varlığına göre SPARC (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

AJCC 2017 T sınıflamasına göre SPARC (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p:0.003$). AJCC 2017 sınıflaması T1 + T2 olan olgularda boyanma oranının T3 + T4 olanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir.

AJCC 2017 N sınıflamasına göre SPARC (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Lenfatik invazyon varlığına göre SPARC (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Anjiyo invazyon varlığına göre SPARC (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Perinöral invazyon varlığına göre SPARC (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Cerrahi sınır pozitifliğine göre SPARC (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

4.8. SPARC (stroma) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi

SPARC (stroma) boyanma düzeylerinin diğer parametrelerle ilişkisi aşağıdaki gibidir (**Tablo 12**) :

Tablo 12. SPARC(stroma)'ın diğer parametrelerle ilişkisi

		SPARC stroma		χ^2	p
		Negatif Düşük + Orta n (%)	Yüksek n (%)		
Tümör çapı	≤4 cm	23 (40.4)	34 (59.6)	0.095	^a 0.758
	>4 cm	8 (44.4)	10 (55.6)		
Pozitif lenf nodu	Yok	9 (45)	11 (55)	0.151	^a 0.697
	Var	22 (40)	33 (60)		
AJCC 2017 T	T1 + T2	16 (34.8)	30 (65.2)	2.105	^a 0.147
	T3 + T4	15 (51.7)	14 (48.3)		
AJCC 2017 N	N0	9 (47.4)	10 (52.6)	3.502	^a 0.174
	N1	12 (54.5)	10 (45.5)		
	N2	10 (30.3)	23 (69.7)		
Lenfatik invazyon	Yok	3 (37.5)	5 (62.5)	0.054	^b 0.999
	Var	28 (41.8)	39 (58.2)		
Anjiyo invazyon	Yok	9 (39.1)	14 (60.9)	0.066	^a 0.797
	Var	22 (42.3)	30 (57.7)		
Perinöral invazyon	Yok	1 (33.3)	2 (66.7)	0.082	^b 0.999
	Var	30 (41.7)	42 (58.3)		
Cerrahi sınır	R0	16 (44.4)	20 (55.6)	0.276	^a 0.599
	R1	15 (38.5)	24 (61.5)		

^aPearson ki-kare test

^bFisher exact test

Tümör çapına göre SPARC (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Pozitif lenf nodu varlığına göre SPARC (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

AJCC 2017 T sınıflamasına göre SPARC (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

AJCC 2017 N sınıflamasına göre SPARC (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Lenfatik invazyon varlığına göre SPARC (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Anjiyo invazyon varlığına göre SPARC (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Perinöral invazyon varlığına göre SPARC (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Cerrahi sınır pozitifliğine göre SPARC (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

4.9. VEGF (tümör) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi

VEGF (tümör) boyanma düzeylerinin diğer parametrelerle ilişkisi aşağıdaki gibidir (**Tablo 13**) :

Tablo 13. VEGF(tümör)'nin diğer parametrelerle ilişkisi

		VEGF tümör		χ^2	p
		Negatif Düşük + Orta n (%)	Yüksek n (%)		
Tümör çapı	≤4 cm	24 (41.4)	34 (58.6)	1.117	^a 0.291
	>4 cm	10 (55.6)	8 (44.4)		
Pozitif lenf nodu	Yok	7 (35)	13 (65)	1.041	^a 0.308
	Var	27 (48.2)	29 (51.8)		
AJCC 2017 T	T1 + T2	18 (38.3)	29 (61.7)	2.066	^a 0.151
	T3 + T4	16 (55.2)	13 (44.8)		
AJCC 2017 N	N0	7 (36.8)	12 (63.2)	0.787	^a 0.675
	N1	11 (50)	11 (50)		
	N2	16 (47.1)	18 (52.9)		
Lenfatik invazyon	Yok	2 (25)	6 (75)	1.409	^b 0.285
	Var	32 (47.1)	36 (52.9)		
Anjiyo invazyon	Yok	8 (34.8)	15 (65.2)	1.322	^a 0.250
	Var	26 (49.1)	27 (50.9)		
Perinöral invazyon	Yok	1 (33.3)	2 (66.7)	0.164	^b 0.999
	Var	33 (45.2)	40 (54.8)		
Cerrahi sınır	R0	15 (41.7)	21 (58.3)	0.261	^a 0.610
	R1	19 (47.5)	21 (52.5)		

^aPearson ki-kare test

^bFisher exact test

Tümör çapına VEGF (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Pozitif lenf nodu varlığına göre VEGF (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

AJCC 2017 T sınıflamasına göre VEGF (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

AJCC 2017 N sınıflamasına göre VEGF (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Lenfatik invazyon varlığına göre VEGF (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Anjiyo invazyon varlığına göre VEGF (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Perinöral invazyon varlığına göre VEGF (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Cerrahi sınıra göre VEGF (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

4.10. VEGF (stroma) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi

VEGF (stroma) boyanma düzeylerinin diğer parametrelerle ilişkisi aşağıdaki gibidir (**Tablo 14**) :

Tablo 14. VEGF(stroma)'nin diğer parametrelerle ilişkisi

		VEGF stroma		χ^2	p
		Negatif Düşük + Orta	Yüksek		
		n (%)	n (%)		
Tümör çapı	≤4 cm	25 (43.1)	33 (56.9)	1.787	^a 0.181
	>4 cm	11 (61.1)	7 (38.9)		
Pozitif lenf nodu	Yok	9 (45)	11 (55)	0.061	^a 0.805
	Var	27 (48.2)	29 (51.8)		
AJCC 2017 T	T1 + T2	21 (44.7)	26 (55.3)	0.357	^a 0.550
	T3 + T4	15 (51.7)	14 (48.3)		
AJCC 2017 N	N0	9 (47.4)	10 (52.6)	1.721	^a 0.423
	N1	13 (59.1)	9 (40.9)		
	N2	14 (41.2)	20 (58.8)		
Lenfatik invazyon	Yok	2 (25)	6 (75)	1.794	^b 0.268
	Var	34 (50)	34 (50)		
Anjiyo invazyon	Yok	10 (43.5)	13 (56.5)	0.200	^a 0.655
	Var	26 (49.1)	27 (50.9)		
Perinöral invazyon	Yok	2 (66.7)	1 (33.3)	0.467	^b 0.601
	Var	34 (46.6)	39 (53.4)		
Cerrahi sınır	R0	18 (50)	18 (50)	0.190	^a 0.663
	R1	18 (45)	22 (55)		

^aPearson ki-kare test

^bFisher exact test

Tümör çapına göre VEGF (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Pozitif lenf nodu varlığına göre VEGF (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

AJCC 2017 T sınıflamasına göre VEGF (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

AJCC 2017 N sınıflamasına göre VEGF (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Lenfatik invazyon varlığına göre VEGF (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Anjiyo invazyon varlığına göre VEGF (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Perinöral invazyon varlığına göre VEGF (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Cerrahi sınır pozitifliğine göre VEGF (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

4.11. Galektin-1 (tümör) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi

Galektin-1 (tümör) boyanma düzeylerinin diğer parametrelerle ilişkisi aşağıdaki gibidir (Tablo 15) :

Tablo 15. Galektin-1 (tümör)'in diğer parametrelerle ilişkisi

		Galektin 1 tümör			χ^2	p
		Negatif n (%)	Düşük n (%)	Yüksek n (%)		
Tümör çapı	≤4 cm	16 (27.6)	22 (37.9)	20 (34.5)	0.958	^a 0.619
	>4 cm	6 (33.3)	8 (44.4)	4 (22.2)		
Pozitif lenf nodu	Yok	5 (25)	8 (40)	7 (35)	0.249	^a 0.883
	Var	17 (30.4)	22 (39.3)	17 (30.4)		
AJCC 2017 T	T1 + T2	11 (23.4)	17 (36.2)	19 (40.4)	4.701	^a 0.095
	T3 + T4	11 (37.9)	13 (44.8)	5 (17.2)		
AJCC 2017 N	N0	5 (26.3)	8 (42.1)	6 (31.6)	4.716	^a 0.318
	N1	4 (18.2)	8 (36.4)	10 (45.5)		
	N2	13 (38.2)	14 (41.2)	7 (20.6)		
Lenfatik invazyon	Yok	3 (37.5)	2 (25)	3 (37.5)	0.974	^a 0.715
	Var	19 (27.9)	28 (41.2)	21 (30.9)		
Anjiyo invazyon	Yok	8 (34.8)	6 (26.1)	9 (39.1)	2.481	^a 0.289
	Var	14 (26.4)	24 (45.3)	15 (28.3)		
Perinöral invazyon	Yok	2 (66.7)	1 (33.3)	0 (0)	2.163	^b 0.372
	Var	20 (27.4)	29 (39.7)	24 (32.9)		
Cerrahi sınır	R0	10 (27.8)	13 (36.1)	13 (36.1)	0.673	^a 0.714
	R1	12 (30)	17 (42.5)	11 (27.5)		

^aPearson ki-kare test

^bFisher exact test

^cFisher-Freeman-Halton exact test

Tümör çapına göre Galektin 1 (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Pozitif lenf nodu varlığına göre Galektin 1 (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

AJCC 2017 T sınıflamasına göre Galektin 1 (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

AJCC 2017 N sınıflamasına göre Galektin 1 (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Lenfatik invazyon varlığına göre Galektin 1 (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Anjiyo invazyon varlığına göre Galektin 1 (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Perinöral invazyon varlığına göre Galektin 1 (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Cerrahi sınır pozitifliğine göre Galektin 1 (tümör) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

4.12. Galektin-1 (stroma) İmmünohistokimya boyanma düzeylerinin diğer histomorfolojik bulgularla ilişkisi

Galektin-1 (stroma) boyanma düzeylerinin diğer parametrelerle ilişkisi aşağıdaki gibidir (Tablo 16) :

Tablo 16. Galektin-1 (stroma)'ın diğer parametrelerle ilişkisi

		Galektin 1 stroma			χ^2	p
		Negatif n (%)	Düşük n (%)	Yüksek n (%)		
Tümör çapı	≤4 cm	22 (37.9)	28 (48.3)	8 (13.8)	1.025	^a 0.599
	>4 cm	5 (27.8)	9 (50)	4 (22.2)		
Pozitif lenf nodu	Yok	10 (50)	9 (45)	1 (5)	3.677	^a 0.159
	Var	17 (30.4)	28 (50)	11 (19.6)		
AJCC 2017 T	T1 + T2	18 (38.3)	22 (46.8)	7 (14.9)	0.418	^a 0.811
	T3 + T4	9 (31)	15 (51.7)	5 (17.2)		
AJCC 2017 N	N0	10 (52.6)	8 (42.1)	1 (5.3)	4.441	^c 0.351
	N1	8 (36.4)	10 (45.5)	4 (18.2)		
	N2	9 (26.5)	18 (52.9)	7 (20.6)		
Lenfatik invazyon	Yok	2 (25)	5 (62.5)	1 (12.5)	0.647	^b 0.877
	Var	25 (36.8)	32 (47.1)	11 (16.2)		
Anjiyo invazyon	Yok	9 (39.1)	9 (39.1)	5 (21.7)	1.478	^a 0.478
	Var	18 (34)	28 (52.8)	7 (13.2)		
Perinöral invazyon	Yok	1 (33.3)	2 (66.7)	0 (0)	0.535	^b 0.999
	Var	26 (35.6)	35 (47.9)	12 (16.4)		
Cerrahi sınır	R0	14 (38.9)	15 (41.7)	7 (19.4)	1.488	^a 0.475
	R1	13 (32.5)	22 (55)	5 (12.5)		

^aPearson ki-kare test

^bFisher exact test

^cFisher-Freeman-Halton exact test

Tümör çapına Galektin 1 (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Pozitif lenf nodu varlığına göre Galektin 1 (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

AJCC 2017 T sınıflamasına göre Galektin 1 (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

AJCC 2017 N sınıflamasına göre Galektin 1 (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Lenfatik invazyon varlığına göre Galektin 1 (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Anjiyo invazyon varlığına göre Galektin 1 (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Perinöral invazyon varlığına göre Galektin 1 (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Cerrahi sınıra göre Galektin 1 (stroma) boyanma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

4.13. İmmünohistokimya Belirteçlerinin Klinikopatolojik Parametrelerle Sağkalım Üzerine Çok Değişkenli Analizi

Tablo 17. Yaşam süresi ve sağkalım üzerine T-evreleri ve immünohistokimya boyalarının etkisinin incelenmesi

	Beta	Wald	p	HR	%95 Güven Aralığı	
					Alt limit	Üst limit
AJCC T 2017 (T3 + T4)	0.536	2.621	0.105	1.710	0.893	3.272
SMA (yüksek)	0.117	0.133	0.715	1.124	0.599	2.112
Kollajen 4		1.974	0.373			
Kollajen 4 (orta)	-0.427	1.310	0.252	0.652	0.314	1.356
Kollajen 4 (yüksek)	-0.564	1.688	0.194	0.569	0.243	1.332
SPARC tümör (yüksek)	-0.084	0.047	0.827	0.920	0.433	1.953
SPARC stroma (yüksek)	-0.092	0.057	0.812	0.912	0.429	1.940
VEGF tümör (yüksek)	0.346	1.034	0.309	1.413	0.726	2.752
VEGF stroma (yüksek)	0.458	2.242	0.134	1.581	0.868	2.878
Galektin 1 tümör		1.160	0.560			
Galektin 1 tümör (düşük)	0.377	1.159	0.282	1.458	0.734	2.899
Galektin 1 tümör (yüksek)	0.231	0.252	0.616	1.260	0.511	3.107
Galektin 1 stroma		3.008	0.222			
Galektin 1 stroma (düşük)	-0.240	0.506	0.477	0.786	0.405	1.526
Galektin 1 stroma (yüksek)	-1.107	2.872	0.090	0.331	0.092	1.189

Yaşam süresi ve sağkalım üzerine T-evreleri ve immünohistokimya boyamalarının etkilerini incelemek amacıyla Cox regresyon analizi uygulanmıştır. Gerçekleştirilen değerlendirme sonucunda ortaya çıkan modelin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (χ^2 :18.126, p:0.256).

Tablo 18. Yaşam süresi ve sağkalım üzerine N-evreleri ve immünohistokimya boyamalarının etkisinin incelenmesi

	Beta	Wald	p	HR	%95 Güven Aralığı	
					Alt limit	Üst limit
AJCC N 2017		10.070	0.007			
AJCC N 2017 (N1)	0.496	1.798	0.180	1.642	0.795	3.391
AJCC N 2017 (N2)	1.303	9.919	0.002	3.682	1.636	8.285
SMA (yüksek)	0.059	0.041	0.840	1.061	0.597	1.886
Kollajen 4		7.204	0.027			
Kollajen 4 (orta)	-0.806	4.890	0.027	0.446	0.218	0.912
Kollajen 4 (yüksek)	-1.044	6.181	0.013	0.352	0.155	0.802
SPARC tümör (yüksek)	-0.259	0.482	0.487	0.772	0.372	1.603
SPARC stroma (yüksek)	-0.270	0.485	0.486	0.764	0.358	1.631
VEGF tümör (yüksek)	0.404	1.455	0.228	1.498	0.777	2.886
VEGF stroma (yüksek)	0.223	0.585	0.444	1.250	0.706	2.214
Galektin 1 tümör		0.707	0.702			
Galektin 1 tümör (düşük)	0.257	0.593	0.441	1.293	0.673	2.485
Galektin 1 tümör (yüksek)	0.307	0.473	0.492	1.360	0.566	3.266
Galektin 1 stroma		6.714	0.035*			
Galektin 1 stroma (düşük)	-0.626	3.539	0.060	0.534	0.278	1.027
Galektin 1 stroma (yüksek)	-1.502	6.234	0.013*	0.223	0.069	0.724
Cox regresyon analizi	*p<0.05		**p<0.01			

Yaşam süresi ve sağkalım üzerine N-evreleri ve immünohistokimya boyamalarının etkilerini incelemek amacıyla Cox regresyon analizi uygulanmıştır. Gerçekleştirilen değerlendirme sonucunda ortaya çıkan modelin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (χ^2 :21.936, p:0.056). Oluşan modelde AJCC N 2017 sınıflaması ve Galektin 1 stroma değişkenlerinin istatistiksel olarak anlamlı etkiye sahip oldukları gözlenmiştir (sırasıyla p:0.007, p:0.035). Galektin 1 stroma düzeyi yüksek olanlarda ölüm görülme oranının galektin 1 stroma düzeyi düşük olanların 0.223 katı (%77.7 daha az) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 0.223 (0.069, 0.724), p:0.013].

Tablo 19. Yaşam süresi ve sağkalım üzerine AJCC 2017 T ve N evreleri ve Galektin 1 stroma boyasının etkisinin incelenmesi

	Beta	Wald	p	HR	%95 Güven Aralığı	
					Alt limit	Üst limit
AJCC T 2017 (T3 + T4)	0.454	2.691	0.101	1.575	0.915	2.708
AJCC N 2017		3.105	0.212			
AJCC N 2017 (N1)	0.298	0.726	0.394	1.347	0.679	2.670
AJCC N 2017 (N2)	0.607	3.089	0.079	1.835	0.933	3.610
Galektin 1 stroma		8.339	0.015*			
Galektin 1 stroma (düşük)	-0.544	3.457	0.063	0.581	0.327	1.030
Galektin 1 stroma (yüksek)	-1.217	7.851	0.005*	0.296	0.126	0.694

Sağkalım üzerine etki eden faktörleri belirlemek amacıyla Cox regresyon analizi uygulanmıştır. Modele AJCC T 2017, AJCC N 2017 ve galektin 1 stroma değişkenleri bağımsız değişken olarak dahil edilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (χ^2 :12.049, p:0.034). Galektin 1 stroma düzeyinin ölüm görülme oranı üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi olduğu gözlenmiştir (p:0.015). Galektin 1 stroma düzeyi yüksek olanlarda ölüm görülme oranının Galektin 1 stroma düzeyi negatif olanların 0.296 katı (%70.4 daha az) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 0.296 (0.126, 0.694), p:0.005].

Tablo 20. Yaşam süresi ve sağkalım üzerine cerrahi sınır ve immünohistokimya boyamalarının etkisinin incelenmesi

	Beta	Wald	p	HR	%95 Güven Aralığı	
					Alt limit	Üst limit
Cerrahi sınır (R1)	0.824	7.554	0.006	2.279	1.267	4.100
SMA (yüksek)	0.186	0.365	0.546	1.204	0.659	2.199
Kollajen 4		3.502	0.174			
Kollajen 4 (orta)	-0.563	2.800	0.094	0.569	0.294	1.101
Kollajen 4 (yüksek)	-0.633	2.341	0.126	0.531	0.236	1.195
SPARC tümör (yüksek)	-0.240	0.408	0.523	0.787	0.377	1.642
SPARC stroma (yüksek)	-0.130	0.116	0.734	0.878	0.416	1.856
VEGF tümör (yüksek)	0.177	0.309	0.578	1.194	0.639	2.228
VEGF stroma (yüksek)	0.219	0.627	0.429	1.244	0.724	2.138
Galektin 1 tümör		0.523	0.770			
Galektin 1 tümör (düşük)	0.062	0.032	0.858	1.064	0.541	2.093
Galektin 1 tümör (yüksek)	-0.219	0.241	0.624	0.804	0.335	1.925
Galektin 1 stroma		4.116	0.128			
Galektin 1 stroma (düşük)	-0.632	3.439	0.064	0.532	0.273	1.037
Galektin 1 stroma (yüksek)	-0.935	2.588	0.108	0.393	0.126	1.227
Cox regresyon analizi	*p<0.05		**p<0.01			

Yaşam süresi ve sağkalım üzerine cerrahi sınır ve immünohistokimya boyamalarının etkilerini incelemek amacıyla Cox regresyon analizi uygulanmıştır. Gerçekleştirilen değerlendirme sonucunda ortaya çıkan modelin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (χ^2 :19.144, p:0.085).

Tablo 21: Yaşam süresi ve sağkalım üzerine lenfatik invazyon ve immünohistokimya boyamalarının etkisinin incelenmesi

	Beta	Wald	p	HR	%95 Güven Aralığı	
					Alt limit	Üst limit
Lenfatik invazyon (var)	0.612	1.669	0.196	1.844	0.729	4.665
SMA (yüksek)	0.075	0.064	0.800	1.078	0.601	1.935
Kollajen 4		3.849	0.146			
Kollajen 4 (orta)	-0.543	2.519	0.112	0.581	0.297	1.136
Kollajen 4 (yüksek)	-0.742	3.211	0.073	0.476	0.211	1.072
SPARC tümör (yüksek)	-0.216	0.345	0.557	0.806	0.392	1.656
SPARC stroma (yüksek)	-0.075	0.042	0.839	0.928	0.452	1.904
VEGF tümör (yüksek)	0.324	0.896	0.344	1.382	0.707	2.701
VEGF stroma (yüksek)	0.384	1.826	0.177	1.469	0.841	2.566
Galektin 1 tümör		0.192	0.908			
Galektin 1 tümör (düşük)	0.147	0.191	0.662	1.159	0.598	2.244
Galektin 1 tümör (yüksek)	0.079	0.034	0.854	1.082	0.468	2.503
Galektin 1 stroma		3.103	0.212			
Galektin 1 stroma (düşük)	-0.189	0.350	0.554	0.828	0.444	1.546
Galektin 1 stroma (yüksek)	-1.033	2.966	0.085	0.356	0.110	1.153

Cox regresyon analizi

Yaşam süresi ve sağkalım üzerine lenfatik invazyon ve immünohistokimya boyamalarının etkilerini incelemek amacıyla Cox regresyon analizi uygulanmıştır. Gerçekleştirilen değerlendirme sonucunda ortaya çıkan modelin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (χ^2 :12.203, p:0.430).

4.14. Yaşam Süresi ve Sağkalım Üzerine Etki Eden Faktörlerin Çok Değişkenli Analizde Değerlendirilmesi

Tablo 22: Sağkalım üzerine etki eden faktörlerin çok değişkenli analizi

	Beta	Wald	p	HR	%95 Güven Aralığı	
					Alt limit	Üst limit
Cinsiyet (erkek)	0.672	6.119	0.013*	1.958	1.150	3.334
Grade		7.355	0.025*			
Grade (1)	-1.140	4.726	0.030*	0.320	0.114	0.894
Grade (2)	-0.751	5.858	0.016*	0.472	0.257	0.867
Cerrahi sınır (R1)	0.687	6.799	0.009**	1.987	1.186	3.330
Cox regresyon analizi	*p<0.05		**p<0.01			

Sağkalım üzerine etki eden faktörleri belirlemek amacıyla Cox regresyon analizi uygulanmıştır. Modele tek değişkenli analizlerde (**Tablo 8**) sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) ya da anlamlılığa yakın ($p<0.200$) etkileri olduğu gözlenen değişkenler bağımsız değişken olarak dahil edilmiştir. Cinsiyet, grade, AJCC T 2017, anjiyo invazyon, perinöral invazyon, cerrahi sınır ve Galektin 1 stroma değişkenleri bağımsız değişkenler olarak, ölüm durumu sonuç değişkeni, yaşam süresi ise zaman değişkeni olarak analize dahil edilmiştir. Modellemede backward yöntemi kullanılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (χ^2 :19.970, p :0.001).

Son aşamada oluşan modelde cinsiyet, grade ve cerrahi sınır değişkenlerinin yer aldığı saptanmıştır. Erkeklerde ölüm görülme oranının kadınların 1.958 katı (%95.8 daha fazla) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 1.958 (1.150, 3.334), p :0.013]. Grade 3 olanlar referans olarak alındığında, grade 1 olanlarda ölüm oranının 0.320 katı (%68 daha az) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 0.320 (0.114, 0.894), p :0.030]. Grade 3 olanlar referans olarak alındığında, grade 2 olanlarda ölüm oranının 0.472 katı (%52.8 daha az) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 0.472 (0.257, 0.867), p :0.016]. Cerrahi sınırı R1 olanlarda ölüm görülme oranının cerrahi sınırı R0 olanların 1.987 katı (%98.7 daha fazla) olduğu saptanmıştır [HR (%95 GA): 1.987 (1.186, 3.330), p :0.009].

5. TARTIŞMA

Pankreatik Duktal Adenokarsinom (PDAK), genellikle geç evrede bulgu veren, agresif klinik gidişi olan ve en yüksek mortaliteye sahip tümörlerdendir. Kansere bağlı ölümlerin en sık dördüncü sebebidir (25). Hatta son yayınlarda üçüncü en sık sebep olduğu söylenmektedir (106).

Çalışmamızda ortalama sağkalım 17,91 ay olup, olguların yaşam süreleri 1,6 ay ile 75 ay arasında değişmektedir. Bu bulgu rezeke edilebilen tümörlerde ortalama sağkalımın 10-20 aya kadar çıkabileceğini bildiren literatür ile uyumludur (7).

Çalışmamızdaki 76 olgunun yaş ortalaması 63,24'tür (34-84). Literatürde hastalığın geç dönemde görüldüğü, görülme aralığının 60-80 yaş olduğu bildirilmektedir. Literatüre göre 40 yaşından genç vakalar da oldukça nadirdir (7, 107, 108). Li ve arkadaşlarının yaptığı, yaş gruplarına bölünen (<60, 61-70, 71-80, >80) bir çalışmada yaşın bağımsız bir kötü prognostik faktör olduğu saptanmıştır (108). Benzer şekilde Hur ve ark.'nın yaptığı, yaş gruplarına bölünen (<50, 50-59, 60-69, 70-79, ≥80) bir çalışmada yaşın bağımsız bir kötü prognostik faktör olduğu saptanmıştır (109). Diğer çalışmalarda ise yaş ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (102, 110-113). Bizim çalışmamızda 65 yaş üstü grup ile altı grup arasında sağkalım açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.945$).

Çalışmamızdaki olguların %36.8'i ($n=28$) kadın, %63.2'si ($n=48$) erkektir. Sağkalım analizine baktığımızda erkeklerin kadınlara göre sağkalımı anlamlı şekilde kötüdür ($p=0.050$). Çok değişkenli analizde de erkek cinsiyet bağımsız kötü prognostik faktör olarak bulunmuştur ($p=0.013$). Literatürde genelde cinsiyet ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (102, 112, 113). Ancak Hur ve ark.'nın yaptığı, erken evre pankreas kanserlerini incelediği, geniş hasta popülasyonlu kohort çalışmada, erkek hastaların kadın hastalara göre anlamlı şekilde kötü prognoz gösterdiği saptanmıştır ($p<0.0001$) (109). Bunun aksine Drifka ve ark.'nın pankreas stromasını inceledikleri çalışmada kadın cinsiyetinin sağkalımının anlamlı olarak kötü olduğu saptanmıştır (111).

Pankreatik duktal adenokarsinomlarda grade değerlendirmesi diğer tüm adenokarsinomlarda olduğu gibi glandüler farklılaşmaya göre yapılır (114). PDAK'lar farklılaşma derecesine göre, grade 1 (iyi diferansiye), grade 2 (orta derecede diferansiye), grade 3 (kötü diferansiye) olmak üzere 3 gruba ayrılırlar. PDAK'larda grade, toplam sağkalımı gösteren bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuştur (112, 114, 115). Bizim çalışmamızda da, tek değişkenli analizde literatürle uyumlu olarak grade 1 ve grade 2 tümörlerin prognozu grade 3 tümörlere göre anlamlı olarak iyidir ($p=0.020$). Çok değişkenli analizde de grade, bağımsız bir prognostik faktör olarak bulunmuştur ($p=0.025$).

Pankreatik duktal adenokarsinomlarda AJCC 2010 'a göre T evrelemesi, erken evrelerde tümör boyutuna göre verilirken ($pT1: \leq 2$ cm; $pT2: >2$ cm), $pT3$ evresi için tümörün pankreas dışına yayılımı (peripankreatik yumuşak doku yayılımı, ekstrapankreatik ortak safra

kanalı tutulumu veya duodenuma invazyon) gerekmektedir (116). Bu değerlendirmedeki çeşitli kısıtlılıklar (peripankreatik yumuşak doku değerlendirmesi, duodenumun hangi katmanına invazyon vb.) ve çalışmalarda T evresiyle prognoz açısından bir ilişki bulunamaması nedeniyle, Saka ve ark. yaptıkları çalışmayla yeni bir değerlendirme sistemi ortaya koymuşlardır (117). Bu çalışma sonrası pT evre değerlendirmesinde farklılıklar olmuş ve bu değişimler AJCC 2017 baskısında yer almıştır (19). Buna göre yeni değerlendirmede pT1: ≤ 2 cm, pT2: >2 cm ≤ 4 cm, pT3: >4 cm olarak evrelenmektedir. pT4 evresinde bir değişiklik olmamış, her iki baskıda da tümörün çölyak, süperior mezenterik arter veya ortak hepatik arter invazyonu yapması evreyi pT4 yapmaktadır.

Bizim çalışmamızda AJCC 2010'a göre olan değerlendirmede olguların büyük çoğunluğu (n=65 (%85.6)) pT3 olarak görülmüştür. Olgular AJCC 2017'ye göre yeniden değerlendirildiğinde pT2 tümör sayısı 6'dan 41'e çıkmış, pT3 tümör sayısı 65'ten 26 'ya inmiştir. AJCC 2017'ye göre pT1 olan vakalarımızın sayısı son derece azdır (n=6). Bunun nedeni olguların geç tanı alması, semptom verdiğinde zaten 2 cm'yi aşmış olması olabilir. pT4 vaka sayısı azlığımızın (n=3) nedeni de bu olguların zaten inop olması ve çoğunun rezeksiyona gitmemesi olabilir.

Sağkalım analizinde ise tek değişkenli analizde AJCC 2010 T evreleri sağkalımla ilişkili bulunmamıştır (p=0.239). AJCC 2017 T evresinin de sağkalımla ilişkisi anlamlılık sınırında değildir (p=0.133). Bu durum literatürle pek uyumlu olmamakla beraber risk oranlarına bakıldığında AJCC 2017'ye göre T3/T4 tümörlerin T1/T2 tümörlere göre ölüm riski 1,5 kat fazladır. Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile vaka sayısı arttırılırsa anlamlı hale gelebileceğinin bir göstergesi olabilir.

AJCC 2010'da N evresi değerlendirmesinde pozitif lenf nodu sayısının bir önemi yoktu. Pozitif bir lenf nodu görülse bile pN1 olarak değerlendiriliyordu (116). Baştürk ve ark.'nın yaptığı çalışmanın prognoza etkisi 4.derece kanıt olarak kabul edildiğinden, AJCC 2017'de 1-3 lenf nodunda metastaz görülmesi pN1, ≥ 4 lenf nodunda metastaz görülmesi evreyi pN2 yapacak şekilde güncellenmiştir (19, 118). Her iki sisteme göre yapılan analizde sağkalım ile anlamlı bir farklılık saptanmamıştır . Bu durum literatürle pek uyumlu olmamakla beraber risk oranlarına bakıldığında AJCC 2017'ye göre N2 tümörlerin N0 tümörlere göre ölüm riski 1,5 kat fazladır. Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile vaka sayısı arttırılırsa anlamlı hale gelebileceğinin bir göstergesi olabilir.

Perinöral invazyon PDAK'un histopatolojik göstergesidir. Diğer tüm karsinomlardan daha fazla olarak, PDAK'larda, literatürde %100' e yaklaşan perinöral invazyon tanımlanmaktadır (119). Perinöral invazyon birçok çalışmada kötü prognoz göstergesiyeğin birçok çalışmada da sağkalıma bir etkisi bulunmamıştır (120). Bizim çalışmamızda perinöral invazyon sağkalıma anlamlı derecede etki etmektedir (p=0.047); ancak çok değişkenli analizde bağımsız prognoz göstergesi olarak bulunmamıştır.

Literatürde cerrahi sınırın prognoza etkisini inceleyen birçok çalışma vardır. Bu çalışmaların her birinde farklı sonuçlar elde edilmiştir. R1 tanımı da çalışmadan çalışmaya farklılıklar göstermektedir. Bazı yayınlar cerrahi sınırdan (boyalı yüzde) tümör hücresi görmeyi R1 olarak değerlendirirken; diğer yayınlar ise cerrahi sınıra ≤ 1 mm mesafede tümör hücresi

görmeyi R1 olarak değerlendirmiştir (121). Bizim çalışmamızda boyalı yüzde tümör hücresi görmek R1 olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda cerrahi sınır pozitifliği sağkalıma etki eden bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuştur ($p=0.009$). Literatürde farklı sonuçlar elde edilmesinin nedeni R1 tanımının çalışmadan çalışmaya farklılık göstermesi, cerrahi sınır lokalizasyonlarının ve terminolojisinin farklı olması olabilir. Çalışmamızın bulgularına göre negatif sınırlarla rezeke edilebilen PDAK'ların prognozu çok daha iyi olmaktadır. Yani negatif sınırlarla rezeksiyon hastaların sağkalımını arttırmaktadır ve tedavide etkili bir yöntemdir.

Neoadjuvan tedavi sonrası rezeksiyonun etkisini inceleyen yeni bir çalışmada da cerrahi sınır pozitifliği sağkalımı kötü etkilemektedir (122). Neoadjuvan tedavi alan tek bir vaka mevcut olduğundan, tedavi sonrası rezeksiyon değerlendirmesi bizim hastalarımızda yapılamamıştır. Bu vaka R0 olarak rezeke edilmiştir; toplam sağkalımı 33 aydır ve hayattadır.

Wang ve ark.'nın yaptığı çalışmada stroma dansitesi sağkalımla ilişkili olarak bulunmuştur. Bu çalışmaya göre hafif (miksoid) ve orta (keloid) stroması olan vakalar kuvvetli (matür) stroması olan vakalara göre anlamlı olarak kötü prognozludur. Stromal patern bağımsız bir kötü prognoz göstergesidir (102). Bizim çalışmamızda dominant stromal patern sağkalımla ilişkili bulunmamıştır ($p=0.488$). Ancak bizim vakalarımızın büyük çoğunun stroması matürdür ($n=69$). Bu olgulardaki ortalama sağkalım süresi 18.07 aydır. Daha sonra miksoid (hafif) stroma dominant patern olarak görülmüştür ($n=6$), keloid vakası ise yalnızca bir tanedir. Miksoid ve keloid vakalarımızın da ortalama sağkalımı 17.14 (4-36) aydır. Miksoid ve keloid vakalar matür vakalar kadar çok olmadığı için anlamlı bir fark çıkmamış olabilir; daha fazla vaka içeren çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilebilir.

Pankreatik yıldızlı hücreler (PYH), inflamasyon veya kanser gibi durumlarda aktive olarak α -SMA eksprese etmeye başlarlar. PYH'ler PDAK stroma-tümör etkileşiminden sorumlu olan ana hücrelerdir (37, 38, 41). α -SMA eksprese eden YH'in birçok kanserde (özofagus, kolorektal, meme, baş-boyun, over vb.) kötü prognoz göstergesi olduğu pek çok yayında gösterilmiştir (102, 103, 123, 124).

Bizim çalışmamızda α -SMA ekspresyonu sağkalımla ilişkili olarak bulunamamıştır ($p=0.982$). Fujita ve ark.'nın 109 cerrahi olarak rezeke edilen hastayla yaptıkları çalışmada, yüksek α -SMA mRNA seviyeleri kötü prognozla ilişkili olarak bulunmuştur, ancak bu çalışma hastaların farklı adjuvan kemoterapi rejimleri almaları nedeniyle heterojen bir çalışma olarak değerlendirilebilir (103). Bizim çalışmamızda 1 hasta neoadjuvan kemoterapi almıştır, 22 hastanın adjuvan kemoterapi bilgilerine ulaşılabilmiş, bunların çoğu ($n=19$) gemsitabin tedavisi almıştır. Ancak nüks/metastaz görülen vakalarda kemoterapi rejimleri değiştirildiğinden hastalar farklı farklı rejimlerle tedavilerine devam etmişlerdir. Bu açıdan bir istatistik hesaplaması yapılamamıştır. Benzer bulgular CONKO-001 kohort çalışmasında da bulunmuştur (124). Ancak bu çalışmada vakalar "Tissue Microarray" yöntemiyle boyanmıştır ve hastalar gemsitabin tedavisi alanlar-almayanlar şeklinde heterojendir. Aynı zamanda α -SMA klonu bizim çalışmamızdan farklıdır (Klon: M0874). Bu çalışmaların tersine Özdemir ve ark.'nın 53 hastadan oluşan genetiğiyle oynanmış farelerle yaptıkları çalışmada α -SMA eksprese eden miyofibroblastları genetik olarak azalttıklarında, ESM miktarının azalıp, tümör

progresyonunun arttığını ve prognozun kötüleştiğini görmüşlerdir (123). Bever ve ark. ise stromal dansite skoru çıkarttıkları 66 adjuvan kemoterapi alan hastayla yaptıkları çalışmalarında prognozla ilişki saptayamamışlardır (125). Erkan ve ark. yüksek α -SMA düzeyi ve düşük kollajen düzeyine birlikte “ *aktive stroma indeksi* “ tanımını getirip kötü prognozla ilişkili bulmuş, ancak tek başına α -SMA düzeylerini sağkalımla ilişkili olarak bulamamışlardır (96). Son olarak Wang ve ark.’nın 145 adjuvan gemsitabin tedavisi alarak rezeke edilen vakada yaptıkları çalışmada α -SMA boyanma düzeylerini tek değişkenli analizde sağkalımla ilişkili olarak bulmuş ancak çok değişkenli analizde anlamlı bir ilişki saptayamamışlardır (102). Bu farklı sonuçların nedeni yöntem, klon, doku büyüklüğü, vaka sayısı ve tedavi tipindeki farklılıklar olabilir.

Çalışmamızda α -SMA boyanma yüzdeleri ile diğer histopatolojik parametreler açısından bir ilişki var mı diye baktığımızda anjiyoinvazyon varlığıyla anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p= 0.006$). Bu açıdan aynı değerlendirmeyi yapan diğer iki çalışmada anjiyoinvazyon ile ilişki saptanmamıştır (102, 103). Bizim çalışmamızda böyle bir ilişkinin bulunması, α -SMA ile fazla boyanan tümörlerin vasküler invazyon ve sistemik yayılım açısından yüksek riskli olduğunu gösterebilir. Ancak bu hipotezin daha geniş çalışmalarla desteklenmesi gereklidir.

Literatürde PDAK’larda Kollajen Tip IV ile ilgili İHK bazlı çalışma bulunamamıştır. Yalnızca invitro olarak immünflorasan bazlı bir çalışma bulunmaktadır (90). Bu çalışmada tedavi sonrası dolaşımda yüksek Kollajen Tip IV düzeyinin kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu anlamda literatürde yapılan ilk patoloji bazlı çalışma bizim çalışmamızdır.

Bulgularımıza baktığımızda Kollajen Tip IV boyanması ile sağkalım açısından anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p=0.294$). Kollajen Tip IV ile diğer histopatolojik verileri karşılaştırdığımız analizde ise Kollajen Tip IV ile AJCC 2017 N evresi anlamlı olmasa bile anlamlılığa yakın sınırdaki ilişkili olarak bulunmuştur ($p=0.086$). İHK bulguları ve AJCC 2017 N evrelerini beraber değerlendirdiğimiz çok değişkenli analizde ise Kollajen Tip IV N evresinden bağımsız bir sağkalım göstergesi olarak bulunmuştur ($p=0.027$). İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da Kollajen Tip IV boyanmasının orta ve yüksek görüldüğü vakaların, düşük boyanan vakalara göre daha iyi prognozlu olduğu bulunmuştur. Bazal membran proteinlerinin metastaz ve anjiyoinvazyon aşamalarındaki önleyici etkilerini düşündüğümüzde, stromada bu proteinin yüksek düzeyde eksprese olduğu tümörlerin prognozlarının diğerlerine oranla daha iyi olması akla yatkın bir sonuç gibi durmaktadır. Ancak bu bulgu literatürdeki immünfloresan bazlı ve dolaşan kandan yapılan tek çalışmadan farklı bir bulgudur. Bu açıdan çok daha fazla patoloji bazlı çalışmaya ihtiyaç vardır.

VEGF birçok malign tümörde ekspresyonu artan, anjiogenez ve kötü prognozla ilişkili olduğu bilinen bir belirteçdir (93). Vasküler endotel hücreleri için proliferasyon, permeabilite ve antiapoptotik bir faktördür. Literatürde PDAK’larda VEGF İHK ekspresyonu ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Ancak bu çalışmalar yalnızca tümör hücrelerindeki VEGF immünekspresyonunu değerlendirmiştir. Stromal VEGF ekspresyonu ile ilgili literatürde herhangi bir yayın mevcut değildir. Tümördeki ekspresyonunu inceleyen çalışmalar VEGF ile sağkalım arasında anlamlı ilişki saptamışlardır (91, 110, 126). Ancak Ellis ve ark.’nın yaptığı

22 hastalık bir çalışmada VEGF ekspresyonu ile herhangi bir histopatolojik parametre ve sağkalım arasında ilişki saptanmamıştır (127). Aynı şekilde Tang ve ark.'nın VEGF-A ve VEGF-C antikorlarıyla yaptıkları 50 hastalık çalışmada sağkalım ve diğer histopatolojik parametrelerle bir ilişki saptanmamıştır (105).

Bizim çalışmamızda tümör ve stroma için ayrı ayrı VEGF yüksek ve VEGF negatif+düşük+orta eksprese olanlar karşılaştırılmış ve sağkalım açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (tümör $p=0.489$, stroma $p=0.656$). Vakalarımızın çoğu yüksek ve orta derecede boyanmıştır; düşük veya negatif vakalar son derece azdır.

SPARC son zamanlarda literatürde oldukça popüler olarak çalışılan bir İHK belirteçidir. Literatürdeki çalışmalar hem pankreas üstüne hem diğer tümörler üzerinedir. SPARC ekspresyonu baş-boyun, akciğer, meme, mide, kolon, özofagus, endometrium, serviks, prostat, karaciğer, biliyer ve mesane karsinomları ile melanom, astrositom ve meningiom gibi birçok insan tümöründe gösterilmiştir (62-72). PDAK'larda SPARC ekspresyonu normal pankreasa göre artmıştır (62). Ampulla tümörleri ile PDAK'ı karşılaştıran bir yayında da PDAK'da ampulla karsinomlarına göre belirgin artmış SPARC ekspresyonu gösterilmiştir (128).

Pankreatik duktal adenokarsinomlarda SPARC boyanma değerlendirmesi birçok yayında farklı şekilde yapılmış ve farklı sonuçlara ulaşılmıştır. İnfanter ve ark.'nın 299 hastalık geniş bir seride yaptıkları çalışmada SPARC'ın stromada eksprese olması bağımsız kötü prognostik faktör olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada tümör hücrelerindeki ekspresyonun prognoza etki etmediği saptanmıştır (73). Bu çalışmada boyanma derecelendirmesi yapılmamış, sadece boyanma-boyanmama şeklinde değerlendirilmiştir. CONKO-001 çalışmasında 160 vakaya SPARC İHK'sı TMA yöntemiyle uygulanmıştır. Buna göre SPARC'ın hem stroma hem de tümörde kuvvetli boyanması gemsitabin tedavisi alan vakalarda kötü prognoz göstergesi olarak bulunmuştur. Ancak kontrol grubunda yani gemsitabin tedavisi verilmeyen olgularda anlamlı bir etki saptanmamıştır (129). Yani SPARC ekspresyonu adjuvan kemoterapi için negatif prognostik biyoışaretleyici olarak saptanmıştır. Bu bulgu aslında yoğun desmoplastik stromanın kemoterapötik ajana karşı bariyer oluşturması teorisini doğrular niteliktedir (130). Ormanns ve ark.'nın klinik denemelerde nab-paklitaksel almayan 134 hastada yaptıkları çalışmada ise SPARC'ın tümör hücrelerinin sitoplazmasında boyanması kötü prognostik faktör olarak bulunurken, stromadaki yüksek boyanmayla düşük boyanmayı karşılaştırdıklarında belirgin bir farklılık saptanmamıştır (131). Gundewar ve ark.'nın yaptıkları ve sadece stromal SPARC boyanmasını derecelendirerek değerlendirdikleri çalışmada stromal SPARC boyanması kötü prognostik faktör olarak bulunmuştur (132).

Çalışmamızda SPARC tümör ve stroma boyanması ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Değerlendirmemizde hem tümör hem de stromada yüksek SPARC boyanmasının sağkalıma anlamlı bir etkisi gösterilememiştir (tümör $p=0.498$, stroma $p=0.418$). Anlamlı olmasa da hem tümör hem de stromada SPARC'ın yüksek boyandığı vakaların prognozu daha iyi bulunmuştur. Literatürde çok farklı yöntemlerle yapılan çok farklı sonuçlar vardır. Bizim çalışmamızın kısıtlılığı hastaların tümünün adjuvan kemoterapi bilgilerine ulaşamamamızdır.

Ancak gemsitabin tedavisi aldığı bilinen 19 vakada istatistik analiz uygulanamasa da, stromasında yüksek SPARC boyananların sağkalımı ortalama 34,5 ayken, orta boyananların 14 aydır, tümörde yüksek SPARC boyananların ortalama sağkalımı 28 ayken orta boyananların 20,8 aydır. Yani tümör stromasının yoğun olması, kemoterapi alan vakalarda prognoza iyi yönde etki etmektedir. Bu bulgu CONKO-001 çalışmasının sonuçlarıyla çelişen bir bulgudur. Ancak bulgularımız, terapi bilgisindeki eksiklik nedeniyle, istatistik olarak hesaplanamamıştır. SPARC ile histopatolojik parametrelerin ilişkisine baktığımızda AJCC 2017 T evresi erken olanların (T1+T2) geç evrede olanlara göre (T3+T4) SPARC tümör boyanma yüzdeleri istatistik olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p=0.003$). Stromada ise belirgin bir farklılık saptanmamıştır.

Galektin-1, aktive PYH'lerden güçlü şekilde eksprese edilen, β -galaktozite afinitesi olan karbonhidrat bağlayan bir proteindir (77, 78). Hücre içinde bulunup, glukozdan bağımsız olarak hücre içi proteinleri ile etkileşebilir ya da hücre dışında aynı hücreden veya komşu hücrelerden sentezlenen β -galaktozit ile glukoz bağımlı olarak etkileşebilir. Hücre proliferasyonu, migrasyonu, adezyonu, inflamasyon ve immün cevap gibi birçok olayda rol oynamaktadır (79, 80).

Galektin-1 bulgularımıza baktığımızda, tek değişkenli sağkalım analizinde, galektin 1 tümör ve stromal boyanmanın sağkalıma anlamlı etkisi olmadığı görülmüştür (tümör $p=0.708$, stroma $p=0.097$). Ancak tabloyu ayrıntılı incelediğimizde aslında stromada yüksek boyanan olguların sağkalımının negatif olgulara göre anlamlı olarak iyi olduğu görülmüştür ($p=0.032$). Galektin-1 stroma boyanması ile AJCC 2017 T ve N evrelerini birlikte değerlendirdiğimiz detaylı analizde ise; yüksek Galektin-1 stroma boyanması evreden bağımsız olarak sağkalıma iyi etki etmektedir ($p=0.015$).

Galektin-1 ile ilgili bulgularımız literatürden farklıdır. Yayınlarda Galektin-1 PDAK tümör hücrelerinde boyanmamakta, yalnızca stromada eksprese olmaktadır (77, 80, 87, 133-135). Tang ve ark.'nın 2012 yılından itibaren galektin 1 ve PDAK ile çalışmaya başladıkları ve 2018 yılına kadar geliştirerek yayınladıkları makalelerde, stromal Galektin-1 boyanması sağkalıma kötü etki etmektedir (77, 87, 134, 136). Bu çalışmalarda pankreatoduodenektomi yapılan 66 PDAK ve 18 kronik pankreatit hastası ve 10 kontrol vakasının parafin bloklarına hem İHK yöntemiyle Galektin-1 uygulamışlardır; hem de normal pankreas alanından ve PDAK alanlarından PYH izole edip, kültürde çoğaltarak bazılarını rekombinant virüs enjekte ederek Galektin-1 sekresyonu yapmalarını sağlamışlardır. Galektin-1 boyanması normal pankreasta görülmezken, kronik pankreatit olgularında zayıf, PDAK olgularında kuvvetli olarak boyanmıştır. Aynı zamanda tümörün diferansiyasyon derecesi azaldıkça Galektin-1 boyanma oranlarının arttığını saptamışlardır. Galektin-1'i tümör boyutu, lenf nodu metastazı, perinöral invazyon, ile ilişkili olarak göstermişlerdir. Çalışmalarında Galektin-1 kuvvetli boyanması zayıf boyanmasına göre anlamlı şekilde sağkalımı kötü etkilemektedir ve bağımsız bir prognoz göstergesidir ($p=0.000$, RO=4.346). İn vitro-in vivo çalışmalarında da TGF- β 1 ile aktive olan PYH'lerden salınan Galektin-1, tümör hücrelerinin proliferasyonunu, MMP2 ve MMP9 ekspresyonunu, pankreatik kanser hücrelerinin invazyonunu ve tümör büyümesini, NF- κ B yolağı üzerinden epitelyal mezankimal dönüşümü uyarmaktadır. Chen ve ark.'nın yaptıkları çok uzun sağkalımlı ve kısa sağkalımlı PDAK hastalarındaki Galektin-1

boyanmalarını karşılaştırdıkları çalışmada ise çok uzun sağkalımlı hastalarda anlamlı olarak daha düşük Galektin-1 ekspresyonu saptamışlardır ($p=0.002$) (135). Galektin-1 literatürde birçok farklı tümörde daha incelenmiş ve yine kötü prognoz göstergesi olarak saptanmıştır (137-139).

Geiger ve ark.'nın meme tümörlerinde kültür ortamında yaptıkları çalışmada ise galektin 1'in meme karsinom hücrelerine bağlanıp apoptozu indükleyerek tümör proliferasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur (140). Bu çalışma, literatürde, Galektin-1'in karsinogeneze negatif etki ettiğini gösteren tek yayındır.

Bizim çalışmamızın literatürden farklı sonuçlar elde etmesinin birkaç nedeni olabilir. Çalışmamızda kullandığımız Galektin-1 İHK belirtecinin klonu diğer çalışmalardan farklıdır (Klon D608T, Cell Signaling). Boyamız zayıf bir paternde boyadığı için değerlendirmek diğer belirteçlere göre daha zor olmuştur. Bazı olgularda tümörde de boyanma görmemizin nedeni tam olarak anlaşılamasa da, doku takibi ve tespiti süreciyle ilgili olabilir. Ancak bulgularımız istatistiksel olarak anlamlı olduğu için değerlidir ve literatürde Galektin-1'in tümör hücrelerini apoptoza sürüklediği bir yayın mevcut olduğundan tartışmaya değerdir. Bu anlamda, yakın gelecekte hedefe yönelik yeni tedavi modalitelerinin gelişeceğinin umulduğu ve prognozun hali hazırda çok kötü olduğu pankreas kanserlerinde Galektin-1 ve PDAK ilişkisini değerlendirecek daha birçok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Stromanın tümörü uyarıcı ve aktive edici komponentlerinin yanısıra baskılayıcı komponentlerinin de olduğunu unutmamak gerekir. Yapılan çalışmalarda pankreatik yıldız hücrelerden zengin daha hücresel stroma içeren PDAK olgularında prognoz daha kötü olurken, kollajenden zengin hücreden fakir stroma içeren PDAK olgularında prognoz daha iyi olmaktadır (96). Bu durum stromayı hedef alan tedaviler denenirken ve uygulanırken dikkatli olunmasını gerektirmektedir (97). Bu amaçla yapılan ilk klinik denemelerden olan fare deneyli çalışmada stromaya yönelik tedavi verilen farelerde daha fazla mortalite görülmesi nedeniyle çalışma durdurulmuştur (98) (IPI-926-03 denemesi ; <http://www.clinicaltrials.gov/>). Bu denemenin başarısızlığının nedeni stroma komponentine seçici olmayan bir şekilde etki eden ajan kullanılması olarak gösterilmiştir (97). Benzer şekilde multi-matriks metalloproteinaz inhibitörü ile yapılan bir çalışmada da sağkalıma katkı sağlanamamıştır (99).

Pankreatik yıldız hücrelerin, hastalığın erken veya geç evresinde, tümörün merkezi veya periferinde yerleşimli olmasına göre anjiyogenik veya antianjiyogenik etki ettiği gösterilmiştir (100). Yani tedaviye karar verirken tümörün hangi kısmına ve komponentine, hangi aşamada müdahale edileceğine iyi karar verilmesi gerekmektedir.

Birçok araştırmada PYH'ler erken preneoplastik lezyon aşamalarından itibaren gösterilmiştir. Epitelyal karsinogenez sırasında PYH'ler de aktive olup miyofibroblast morfolojisi gösterirler. Bu gözlem 3 hipotezle açıklanabilir; (1) PYH'ler karsinogenezin erken aşamalarından itibaren tümör hücreleriyle birlikte ortak olarak karsinogeneze etki ediyor olabilir, (2) Erken preneoplastik aşamalardan itibaren tümör hücrelerini çevreleyip onları sınırlamaya çalışıyor olabilir, (3) PYH'ler genetik defektif hücrelerin çevresinde öncelikle sınırlayıcı bir şekilde aktive olup ESM elemanları sentezleyerek stromayı daha fibrotik hale

getirip ilerleyen evrelerde hipoksik ortam oluşturup ortama reaktif oksijen moleküllerinin salınmasına ve epitelyal hücrelerde genetik instabiliteye sebep oluyor olabilirler (101).

Bulgularımız stromanın tümörü sınırlamaya çalıştığı yönündedir. Galektin-1 yüksek boyanan vakaların sağkalımı istatistik olarak anlamlı şekilde iyidir ve evreden bağımsızdır. İstatistik olarak anlamlı olmasa da Kollajen Tip IV yüksek boyanan vakalar evreden bağımsız daha iyi prognozlu bulunmuştur. İstatistik olarak hesaplanamasa da adjuvan olarak gemitabin alan hastalarda SPARC yüksek boyananların prognozu daha iyidir. Vakalarımız genellikle kollajenden zengin matür stromaya sahip olduklarından Erkan ve ark.'nın çalışmasındaki kollajeni yüksek olgulardaki görülen iyi prognozla benzer sonuçlar elde etmemiz beklenen bir bulgudur. Stromanın tümörü uyarıcı ve indükleyici özelliğini vurgulayan ve gösteren birçok çalışma olmasına karşın, klinik araştırmalarda sonuç elde edilememesi ve birbirine zıt hipotezlerin geliştirilmiş olması nedeniyle, çalışmamızın bulguları stromal hedefe yönelik tedavi rejimleri geliştirilirken daha dikkatli olunması gerektiğini vurgulamaktadır.



6. SONUÇLAR

- ✓ Çalışmamızda ortalama sağkalım 17,91 ay olup literatür ile uyumludur.
- ✓ Erkek cinsiyet PDAK'lar için bağımsız kötü prognoz göstergesidir.
- ✓ Grade PDAK'lar için bağımsız kötü prognoz göstergesidir. Grade arttıkça sağkalım anlamlı şekilde düşmektedir.
- ✓ Perinöral invazyon sağkalıma anlamlı şekilde etki etmektedir.
- ✓ Negatif sınırlarla rezeksiyon, hastaların prognozuna son derece iyi etki eden bir faktördür. Cerrahi operasyon, tedavi modelitesi olarak PDAK'larda çok büyük önem arz etmektedir.
- ✓ SMA immünohistokimyası PDAK'ların anjiyoinvazyon ve sistemik yayılım riskinin belirlenmesinde yardımcı olabilir. Stromasında yüksek oranda SMA saptanan tümörlerin anjiyoinvaziv kapasiteleri diğerlerinden daha yüksektir.
- ✓ Bu çalışma Kollajen Tip 4 İHK boyaması ile PDAK'ları inceleyen ilk patoloji bazlı çalışmadır. Antianjiogenik etkileri bilinen bu molekülün, damar oluşumunu engelleyerek tümör büyümesine engel olabileceği düşünülebilir. Bu durumda büyük çaplı tümörlerde ekspresyonunun az olması beklenebilir. Ancak çalışmamızda olguların çapı ve T evresiyle ilgili anlamlı bir sonuca ulaşamamıştır. Kollajen Tip 4 boyanan vakalarımız, AJCC 2017 N evresinden bağımsız olarak, uzun sağkalım göstermektedir. Bazal membran proteinlerinin metastaz ve anjiyoinvazyon aşamalarındaki önleyici etkilerini düşündüğümüzde, stromada bu proteinin yüksek düzeyde eksprese olduğu tümörlerin prognozunun diğerlerine oranla daha iyi olması akla yatkın bir sonuç gibi durmaktadır. Bu bulgular göze alındığında, hem antianjiogenik hem antistromal tedavi opsiyonları geliştirilirken Kollajen Tip IV de çalışma amaçlarına dahil edilebilir.
- ✓ AJCC 2017'ye göre erken evre (T1+T2) tümörler geç evre tümörlere (T3+T4) göre daha yoğun olarak tümöral SPARC eksprese etmektedir. Boyut arttıkça tümörde SPARC boyanma yüzdesi azalmaktadır. Adjuvan gemitabin alan grupta, hem tümör hem stromada SPARC'ın yüksek boyandığı vakalarda prognoz daha iyidir. SPARC ekspresyon oranları gemitabin tedavisine yanıtı belirlemede faydalı bir belirteç olabilir. Ancak çalışmamızda terapi bilgilerine ulaşım kısıtlı olduğundan bu hipotezi kanıtlayabilmek için daha geniş çaplı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.
- ✓ Literatürden farklı olarak, çalışmamızda stromada Galektin-1 pozitifliği patolojik evreden bağımsız ve iyi prognostik faktördür.
- ✓ Stromanın tümörü uyarıcı ve indükleyici özelliğini vurgulayan ve gösteren birçok çalışma olmasına karşın, klinik araştırmalarda sonuç elde edilememesi ve birbirine zıt hipotezlerin geliştirilmiş olması nedeniyle, bulgularımız stromal hedefe yönelik tedavi rejimleri geliştirilirken daha dikkatli olunması gerektiğini vurgulamaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Paulsen F, Waschke J. Sobotta Tables of Muscles, Joints and Nerves, English: Tables to 15th ed. of the Sobotta Atlas: Elsevier, Urban&FischerVerlag; 2013.
2. Sternberg S, Antonioli D, Carter D, Mills S, Oberman H. Diagnostic Surgical Pathology. Vol. 2.
3. Drake R, Vogl AW, Mitchell AW. Gray's Basic Anatomy: with STUDENT CONSULT Online Access: Elsevier Health Sciences; 2012.
4. Netter FH. Atlas of human anatomy: Elsevier Health Sciences; 2014.
5. Barbara Y, James S, Alan S, John W. Wheater's functional Histology. Churchill livingstone, china. 2006;3:46-59.
6. Mills SE. Histology for Pathologists: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
7. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system: World Health Organization; 2010.
8. Klöppel G, Klimstra DS, Hruban RH, Adsay V, Capella C, Couvelard A, et al. Pancreatic Neuroendocrine Tumors: Update on the New World Health Organization Classification. *AJSP: Reviews & Reports*. 2017;22(5):233-9.
9. Haqq J, Howells LM, Garcea G, Metcalfe MS, Steward WP, Dennison AR. Pancreatic stellate cells and pancreas cancer: Current perspectives and future strategies. *European Journal of Cancer*. 2014;50(15):2570-82.
10. Wee A, Pitman M. Diagnostic cytology of the liver. Odze and Goldblum surgical pathology of the GI tract, liver, biliary tract, and pancreas 3rd edn Elsevier Saunders. 2015;119.
11. Society AC. Cancer facts and figures 2013. American Cancer Society Atlanta; 2013.
12. Bailey P, Chang DK, Nones K, Johns AL, Patch A-M, Gingras M-C, et al. Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature*. 2016.
13. Odze RD, Goldblum JR. Odze and Goldblum Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas E-Book: Elsevier Health Sciences; 2014.
14. Ottenhof NA, de Wilde RF, Maitra A, Hruban RH, Offerhaus GJA. Molecular characteristics of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pathology research international*. 2011;2011.
15. Maitra A, Kern SE, Hruban RH. Molecular pathogenesis of pancreatic cancer. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2006;20(2):211-26.
16. Basturk O, Hong S-M, Wood LD, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Biankin AV, et al. A Revised Classification System and Recommendations From the Baltimore Consensus Meeting for Neoplastic Precursor Lesions in the Pancreas. *The American journal of surgical pathology*. 2015;39(12):1730-41.
17. Adsay V. BO. Current Concepts in Surgical Pathology of the Pancreas. JR. G, editor2011.
18. AŞKAN G, BAĞCI P, MEMİŞ B, BAŞTÜRK O. Intraductal Neoplasms of the Pancreas: An Update. 2017.
19. Amin MB, Edge SB. *AJCC cancer staging manual*: Springer; 2017.
20. Adsay NV, Basturk O, Saka B, Bağci P, Ozdemir D, Balci S, et al. Whipple made simple for surgical pathologists: orientation, dissection, and sampling of pancreaticoduodenectomy specimens for a more practical and accurate evaluation of pancreatic, distal common bile duct, and ampullary tumors. *The American journal of surgical pathology*. 2014;38(4):480.
21. Campbell F, Verbeke CS. *Pathology of the Pancreas: A Practical Approach*: Springer Science & Business Media; 2013.

22. Muraki T, Reid MD, Basturk O, Jang K-T, Bedolla G, Bagci P, et al. Undifferentiated carcinoma with osteoclastic giant cells of the pancreas: clinicopathologic analysis of 38 cases highlights a more protracted clinical course than currently appreciated. *The American journal of surgical pathology*. 2016;40(9):1203-16.
23. Ralph H, Hruban M, David S, Klimstra M. *Tumors of the Pancreas (Afip Atlas of Tumor Pathology; 4th Series Fascicle 6)*. Washington, DC: American Registry of Pathology; 2007.
24. Lunardi S, Muschel RJ, Brunner TB. The stromal compartments in pancreatic cancer: are there any therapeutic targets? *Cancer letters*. 2014;343(2):147-55.
25. Luo G, Long J, Zhang B, Liu C, Xu J, Ni Q, et al. Stroma and pancreatic ductal adenocarcinoma: an interaction loop. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2012;1826(1):170-8.
26. Topper H BB, Gerin F, Bagci P, Bozkurtlar E, Celikel C. Pankreatik duktal adenokarsinom ve stromasi. 24 Ulusal Patoloji Kongresi; Trabzon19-23 Kasım 2014.
27. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*. 2011;144(5):646-74.
28. Bailey JM, Swanson BJ, Hamada T, Eggers JP, Singh PK, Caffery T, et al. Sonic hedgehog promotes desmoplasia in pancreatic cancer. *Clinical Cancer Research*. 2008;14(19):5995-6004.
29. Waghray M, Yalamanchili M, di Magliano MP, Simeone DM. Deciphering the role of stroma in pancreatic cancer. *Current opinion in gastroenterology*. 2013;29(5):537.
30. Ueno H, Shinto E, Shimazaki H, Kajiwara Y, Sueyama T, Yamamoto J, et al. Histologic categorization of desmoplastic reaction: its relevance to the colorectal cancer microenvironment and prognosis. *Annals of surgical oncology*. 2015;22(5):1504-12.
31. Ueno H, Kanemitsu Y, Sekine S, Ishiguro M, Ito E, Hashiguchi Y, et al. Desmoplastic Pattern at the Tumor Front Defines Poor-prognosis Subtypes of Colorectal Cancer. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2017;41(11):1506-12.
32. McCarroll JA, Naim S, Sharbeen G, Russia N, Lee J, Kavallaris M, et al. Role of pancreatic stellate cells in chemoresistance in pancreatic cancer. *Front Physiol*. 2014;5(141.10):3389.
33. Korc M. Pancreatic cancer-associated stroma production. *The American Journal of Surgery*. 2007;194(4):S84-S6.
34. Apte MV, Wilson JS, Lugea A, Pandol SJ. A starring role for stellate cells in the pancreatic cancer microenvironment. *Gastroenterology*. 2013;144(6):1210-9.
35. Feig C, Gopinathan A, Neesse A, Chan DS, Cook N, Tuveson DA. The pancreas cancer microenvironment. *Clinical Cancer Research*. 2012;18(16):4266-76.
36. Apte MV, Pirola RC, Wilson JS. Battle-scarred pancreas: Role of alcohol and pancreatic stellate cells in pancreatic fibrosis. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2006;21(s3):S97-S101.
37. Omary MB, Lugea A, Lowe AW, Pandol SJ. The pancreatic stellate cell: a star on the rise in pancreatic diseases. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(1):50-9.
38. Bachem MG, Schünemann M, Ramadani M, Siech M, Beger H, Buck A, et al. Pancreatic carcinoma cells induce fibrosis by stimulating proliferation and matrix synthesis of stellate cells. *Gastroenterology*. 2005;128(4):907-21.
39. Jiang X, Abiatari I, Kong B, Erkan M, De Oliveira T, Giese NA, et al. Pancreatic islet and stellate cells are the main sources of endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor/prokineticin-1 in pancreatic cancer. *Pancreatology*. 2009;9(1-2):165-72.
40. Aoki H, Ohnishi H, Hama K, Shinozaki S, Kita H, Yamamoto H, et al. Existence of autocrine loop between interleukin-6 and transforming growth factor- β 1 in activated rat pancreatic stellate cells. *Journal of cellular biochemistry*. 2006;99(1):221-8.

41. Erkan M, Reiser-Erkan C, Michalski C, Kleeff J. Tumor microenvironment and progression of pancreatic cancer. *Exp Oncol*. 2010;32(3):128-31.
42. Li J, Wientjes MG, Au JL-S. Pancreatic cancer: pathobiology, treatment options, and drug delivery. *The AAPS journal*. 2010;12(2):223-32.
43. Neesse A, Michl P, Frese KK, Feig C, Cook N, Jacobetz MA, et al. Stromal biology and therapy in pancreatic cancer. *Gut*. 2010;gut. 2010.226092.
44. Phillips P. Pancreatic stellate cells and fibrosis. 2012.
45. Fujita H, Ohuchida K, Mizumoto K, Egami T, Miyoshi K, Moriyama T, et al. Tumor–stromal interactions with direct cell contacts enhance proliferation of human pancreatic carcinoma cells. *Cancer science*. 2009;100(12):2309-17.
46. Hwang RF, Moore T, Arumugam T, Ramachandran V, Amos KD, Rivera A, et al. Cancer-associated stromal fibroblasts promote pancreatic tumor progression. *Cancer research*. 2008;68(3):918-26.
47. Jiang H-B, Xu M, Wang X-P. Pancreatic stellate cells promote proliferation and invasiveness of human pancreatic cancer cells via galectin-3. *WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY*. 2008;14(13):2023.
48. Vonlaufen A, Joshi S, Qu C, Phillips PA, Xu Z, Parker NR, et al. Pancreatic stellate cells: partners in crime with pancreatic cancer cells. *Cancer research*. 2008;68(7):2085-93.
49. Schneiderhan W, Diaz F, Fundel M, Zhou S, Siech M, Hasel C, et al. Pancreatic stellate cells are an important source of MMP-2 in human pancreatic cancer and accelerate tumor progression in a murine xenograft model and CAM assay. *Journal of cell science*. 2007;120(3):512-9.
50. Neesse A, Wagner M, Ellenrieder V, Bachem M, Gress TM, Buchholz M. Pancreatic stellate cells potentiate proinvasive effects of SERPINE2 expression in pancreatic cancer xenograft tumors. *Pancreatology*. 2007;7(4):380-5.
51. Mantoni TS, Schendel RR, Rödel F, Niedobitek G, Al-Assar O, Masamune A, et al. Stromal SPARC expression and patient survival after chemoradiation for non-resectable pancreatic adenocarcinoma. *Cancer biology & therapy*. 2008;7(11):1806-15.
52. Erkan M, Kleeff J, Gorbachevski A, Reiser C, Mitkus T, Esposito I, et al. Periostin creates a tumor-supportive microenvironment in the pancreas by sustaining fibrogenic stellate cell activity. *Gastroenterology*. 2007;132(4):1447-64.
53. Erkan M, Reiser-Erkan C, Michalski CW, Deucker S, Sauliunaite D, Streit S, et al. Cancer-stellate cell interactions perpetuate the hypoxia-fibrosis cycle in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Neoplasia*. 2009;11(5):497-508.
54. Masamune A, Kikuta K, Watanabe T, Satoh K, Hirota M, Shimosegawa T. Hypoxia stimulates pancreatic stellate cells to induce fibrosis and angiogenesis in pancreatic cancer. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2008;295(4):G709-G17.
55. Roda O, Ortiz-Zapater E, Martínez-Bosch N, Gutiérrez-Gallego R, Vila-Perelló M, Ampurdanés C, et al. Galectin-1 is a novel functional receptor for tissue plasminogen activator in pancreatic cancer. *Gastroenterology*. 2009;136(4):1379-90. e5.
56. Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, Cros J, Faivre S, Hammel P, Raymond E. Stromal expression of SPARC in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2013;32(3-4):585-602.
57. Vaz J, Ansari D, Sasor A, Andersson R. SPARC: a potential prognostic and therapeutic target in pancreatic cancer. *Pancreas*. 2015;44(7):1024.
58. Bradshaw AD. Diverse biological functions of the SPARC family of proteins. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2012;44(3):480-8.
59. Chlenski A, Cohn SL, editors. *Modulation of matrix remodeling by SPARC in neoplastic progression*. Seminars in cell & developmental biology; 2010: Elsevier.

60. Rivera LB, Bradshaw AD, Brekken RA. The regulatory function of SPARC in vascular biology. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2011;68(19):3165-73.
61. Chong HC, Tan CK, Huang R-L, Tan NS. Matricellular proteins: a sticky affair with cancers. *Journal of oncology*. 2012;2012.
62. Guweidhi A, Kleeff J, Adwan H, Giese NA, Wente MN, Giese T, et al. Osteonectin influences growth and invasion of pancreatic cancer cells. *Annals of surgery*. 2005;242(2):224-34.
63. Liang J-f, Wang H-k, Xiao H, Li N, Cheng C-x, Zhao Y-z, et al. Relationship and prognostic significance of SPARC and VEGF protein expression in colon cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2010;29(1):71.
64. Wang L, Yang M, Shan L, Qi L, Chai C, Zhou Q, et al. The role of SPARC protein expression in the progress of gastric cancer. *Pathology & Oncology Research*. 2012;18(3):697-702.
65. Kurtul N, Eroglu C, Unal D, Tasdemir EA, Orhan O, Zararsiz G, et al. Prognostic value of SPARC expression in unresectable NSCLC treated with concurrent chemoradiotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(20):8911-6.
66. Nakashima S, Kobayashi S, Sakai D, Tomokuni A, Tomimaru Y, Hama N, et al. Prognostic impact of tumoral and/or peri-tumoral stromal SPARC expressions after surgery in patients with biliary tract cancer. *Journal of surgical oncology*. 2014;110(8):1016-22.
67. Yusuf N, Inagaki T, Kusunoki S, Okabe H, Yamada I, Matsumoto A, et al. SPARC was overexpressed in human endometrial cancer stem-like cells and promoted migration activity. *Gynecologic oncology*. 2014;134(2):356-63.
68. Zhu A, Yuan P, Du F, Hong R, Ding X, Shi X, et al. SPARC overexpression in primary tumors correlates with disease recurrence and overall survival in patients with triple negative breast cancer. *Oncotarget*. 2016;7(47):76628.
69. Wang H-Y, Li Y-Y, Shao Q, Hou J-H, Wang F, Cai M-B, et al. Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) is associated with nasopharyngeal carcinoma metastasis and poor prognosis. *Journal of translational medicine*. 2012;10(1):27.
70. Yoshida S, Wakisaka N, Kondo S, Moriyama-Kita M, Hirai N, Endo K, et al. Expression of secreted protein acidic and rich in cysteine is an independent prognostic indicator of a poor clinical outcome in oropharyngeal carcinoma patients. *Acta otolaryngologica*. 2016;136(2):189-94.
71. Derosa C, Furusato B, Shaheduzzaman S, Srikantan V, Wang Z, Chen Y, et al. Elevated osteonectin/SPARC expression in primary prostate cancer predicts metastatic progression. *Prostate cancer and prostatic diseases*. 2012;15(2):150-6.
72. Shi D, Jiang K, Fu Y, Fang R, Liu X, Chen J. Overexpression of SPARC correlates with poor prognosis in patients with cervical carcinoma and regulates cancer cell epithelial-mesenchymal transition. *Oncology letters*. 2016;11(5):3251-8.
73. Infante JR, Matsubayashi H, Sato N, Tonascia J, Klein AP, Riall TA, et al. Peritumoral fibroblast SPARC expression and patient outcome with resectable pancreatic adenocarcinoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2007;25(3):319-25.
74. Al Haddad AH, Adrian TE. Challenges and future directions in therapeutics for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Expert opinion on investigational drugs*. 2014;23(11):1499-515.
75. Von Hoff DD, Ramanathan RK, Borad MJ, Laheru DA, Smith LS, Wood TE, et al. Gemcitabine plus nab-paclitaxel is an active regimen in patients with advanced pancreatic cancer: a phase I/II trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2011;29(34):4548-54.
76. Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, Chiorean EG, Infante J, Moore M, et al. Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *New England Journal of Medicine*. 2013;369(18):1691-703.

77. Tang D, Yuan Z, Xue X, Lu Z, Zhang Y, Wang H, et al. High expression of Galectin-1 in pancreatic stellate cells plays a role in the development and maintenance of an immunosuppressive microenvironment in pancreatic cancer. *International journal of cancer*. 2012;130(10):2337-48.
78. Masamune A, Satoh M, Hirabayashi J, Kasai K, Satoh K, Shimosegawa T. Galectin-1 induces chemokine production and proliferation in pancreatic stellate cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2006;290(4):G729-G36.
79. Kovács-Sólyom F, Blaskó A, Fajka-Boja R, Katona RL, Végh L, Novák J, et al. Mechanism of tumor cell-induced T-cell apoptosis mediated by galectin-1. *Immunology letters*. 2010;127(2):108-18.
80. Xue X, Lu Z, Tang D, Yao J, An Y, Wu J, et al. Galectin-1 secreted by activated stellate cells in pancreatic ductal adenocarcinoma stroma promotes proliferation and invasion of pancreatic cancer cells: an in vitro study on the microenvironment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas*. 2011;40(6):832-9.
81. Spano D, Russo R, Di Maso V, Rosso N, Terracciano LM, Roncalli M, et al. Galectin-1 and its involvement in hepatocellular carcinoma aggressiveness. *Mol Med*. 2010;16(3-4):102-15.
82. Satelli A, Rao US. Galectin-1 is silenced by promoter hypermethylation and its re-expression induces apoptosis in human colorectal cancer cells. *Cancer letters*. 2011;301(1):38-46.
83. Bektas S, Bahadir B, Ucan BH, Ozdamar SO. CD24 and galectin-1 expressions in gastric adenocarcinoma and clinicopathologic significance. *Pathology & Oncology Research*. 2010;16(4):569-77.
84. Wu M-H, Hong T-M, Cheng H-W, Pan S-H, Liang Y-R, Hong H-C, et al. Galectin-1-mediated tumor invasion and metastasis, up-regulated matrix metalloproteinase expression, and reorganized actin cytoskeletons. *Molecular Cancer Research*. 2009;7(3):311-8.
85. Thijssen VL, Postel R, Brandwijk RJ, Dings RP, Nesmelova I, Satijn S, et al. Galectin-1 is essential in tumor angiogenesis and is a target for antiangiogenesis therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(43):15975-80.
86. Shen J, Person MD, Zhu J, Abbruzzese JL, Li D. Protein expression profiles in pancreatic adenocarcinoma compared with normal pancreatic tissue and tissue affected by pancreatitis as detected by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Cancer research*. 2004;64(24):9018-26.
87. Tang D, Zhang J, Yuan Z, Gao J, Wang S, Ye N, et al. Pancreatic satellite cells derived galectin-1 increase the progression and less survival of pancreatic ductal adenocarcinoma. *PloS one*. 2014;9(3):e90476.
88. Khoshnoodi J, Pedchenko V, Hudson BG. Mammalian collagen IV. *Microscopy research and technique*. 2008;71(5):357-70.
89. Sund M, Hamano Y, Sugimoto H, Sudhakar A, Soubasakos M, Yerramalla U, et al. Function of endogenous inhibitors of angiogenesis as endothelium-specific tumor suppressors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(8):2934-9.
90. Öhlund D, Lundin C, Ardnor B, Öman M, Naredi P, Sund M. Type IV collagen is a tumour stroma-derived biomarker for pancreas cancer. *British journal of cancer*. 2009;101(1):91-7.
91. Seo Y, Baba H, Fukuda T, Takashima M, Sugimachi K. High expression of vascular endothelial growth factor is associated with liver metastasis and a poor prognosis for patients with ductal pancreatic adenocarcinoma. *Cancer*. 2000;88(10):2239-45.

92. Doi Y, Yashiro M, Yamada N, Amano R, Noda S, Hirakawa K. VEGF-A/VEGFR-2 signaling plays an important role for the motility of pancreas cancer cells. *Annals of surgical oncology*. 2012;19(8):2733-43.
93. Yokoi K, Sasaki T, Bucana CD, Fan D, Baker CH, Kitadai Y, et al. Simultaneous Inhibition of EGFR, VEGFR and PDGFR Signaling Combined with Gemcitabine Produces Therapy of Human Pancreatic Carcinoma and Prolongs Survival in an Orthotopic Nude Mouse Model. *Cancer research*. 2005;65(22):10371.
94. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber H-P, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nature reviews Drug discovery*. 2004;3(5):391-400.
95. Kindler H, Friberg G, Stadler W, Singh D, Locker G, Nattam S, et al., editors. Bevacizumab (B) plus gemcitabine (G) in patient (pts) with advanced pancreatic cancer (PC): updated results of a multi-center phase II trial. *ASCO Annual Meeting Proceedings*; 2004.
96. Erkan M, Michalski CW, Rieder S, Reiser-Erkan C, Abiatari I, Kolb A, et al. The activated stroma index is a novel and independent prognostic marker in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2008;6(10):1155-61.
97. Erkan M. Understanding the stroma of pancreatic cancer: co-evolution of the microenvironment with epithelial carcinogenesis. *The Journal of pathology*. 2013;231(1):4-7.
98. Olive KP, Jacobetz MA, Davidson CJ, Gopinathan A, McIntyre D, Honess D, et al. Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science*. 2009;324(5933):1457-61.
99. Conroy T, Gavaille C, Adenis A. Metastatic pancreatic cancer: old drugs, new paradigms. *Current opinion in oncology*. 2011;23(4):390-5.
100. Erkan M, Adler G, Apte MV, Bachem MG, Buchholz M, Detlefsen S, et al. StellaTUM: current consensus and discussion on pancreatic stellate cell research. *BMJ Publishing Group*; 2011.
101. Gillies RJ, Verduzco D, Gatenby RA. Evolutionary dynamics of carcinogenesis and why targeted therapy does not work. *Nature Reviews Cancer*. 2012;12(7):487.
102. Wang LM, Silva MA, D'Costa Z, Bockelmann R, Soonawalla Z, Liu S, et al. The prognostic role of desmoplastic stroma in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(4):4183.
103. Fujita H, Ohuchida K, Mizumoto K, Nakata K, Yu J, Kayashima T, et al. α -Smooth muscle actin expressing stroma promotes an aggressive tumor biology in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas*. 2010;39(8):1254-62.
104. Maithel SK, Coban I, Kneuert PJ, Kooby DA, El-Rayes BF, Kauh JS, et al. Differential expression of ERCC1 in pancreas adenocarcinoma: high tumor expression is associated with earlier recurrence and shortened survival after resection. *Annals of surgical oncology*. 2011;18(9):2699-705.
105. Tang R-F, Wang S-X, Peng L, Wang S-X, Zhang M, Li Z-F, et al. Expression of vascular endothelial growth factors A and C in human pancreatic cancer. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2006;12(2):280.
106. Are C, Chowdhury S, Ahmad H, Ravipati A, Song T, Shrikandhe S, et al. Predictive global trends in the incidence and mortality of pancreatic cancer based on geographic location, socio-economic status, and demographic shift. *Journal of surgical oncology*. 2016;114(6):736-42.
107. Ohmoto A, Yachida S, Kubo E, Takai E, Suzuki M, Shimada K, et al. Clinicopathologic Features and Germline Sequence Variants in Young Patients (≤ 40 Years Old) With Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pancreas*. 2016;45(7):1056-61.
108. Li X, Liu Z, Ye Z, Gou S, Wang C. Impact of age on survival of patients with pancreatic cancer after surgery: Analysis of SEER data. *Pancreatology*. 2017.

109. Hur C, Tramontano AC, Dowling EC, Brooks GA, Jeon A, Brugge WR, et al. Early Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Survival Is Dependent on Size: Positive Implications for Future Targeted Screening. *Pancreas*. 2016;45(7):1062-6.
110. Niedergethmann M, Hildenbrand R, Wostbrock B, Hartel M, Sturm JW, Richter A, et al. High expression of vascular endothelial growth factor predicts early recurrence and poor prognosis after curative resection for ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Pancreas*. 2002;25(2):122-9.
111. Drifka CR, Loeffler AG, Mathewson K, Keikhosravi A, Eickhoff JC, Liu Y, et al. Highly aligned stromal collagen is a negative prognostic factor following pancreatic ductal adenocarcinoma resection. *Oncotarget*. 2016;7(46):76197.
112. Rochefort MM, Ankeny JS, Kadera BE, Donald GW, Isacoff W, Wainberg ZA, et al. Impact of tumor grade on pancreatic cancer prognosis: validation of a novel TNMG staging system. *Annals of surgical oncology*. 2013;20(13):4322-9.
113. Ahola R, Siiki A, Vasama K, Vornanen M, Sand J, Laukkanen J. Patients with resected, histologically re-confirmed pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) can achieve long-term survival despite T3 tumour or nodal involvement. The Finnish Register Study 2000–2013. *Pancreatology*. 2017;17(5):822-6.
114. 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.
115. Stark AP, Sacks GD, Rochefort MM, Donahue TR, Reber HA, Tomlinson JS, et al. Long-term survival in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Surgery*. 2016;159(6):1520-7.
116. Edge S. American Cancer Society. *AJCC cancer staging handbook: from the AJCC cancer staging manual*. New York: Springer; 2010.
117. Saka B, Balci S, Basturk O, Bagci P, Postlewait LM, Maithel S, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma is spread to the peripancreatic soft tissue in the majority of resected cases, rendering the AJCC T-stage protocol inapplicable and insignificant: a size-based staging system (pT1:≤ 2, pT2:> 2–≤ 4, pT3:> 4 cm) is more valid and clinically relevant. *Annals of surgical oncology*. 2016;23(6):2010-8.
118. Basturk O, Saka B, Balci S, Postlewait LM, Knight J, Goodman M, et al. Substaging of lymph node status in resected pancreatic ductal adenocarcinoma has strong prognostic correlations: proposal for a revised N classification for TNM staging. *Annals of surgical oncology*. 2015;22(3):1187-95.
119. Liebl F, Demir IE, Mayer K, Schuster T, D'Haese JG, Becker K, et al. The impact of neural invasion severity in gastrointestinal malignancies: a clinicopathological study. *Annals of surgery*. 2014;260(5):900-8.
120. Schorn S, Demir IE, Haller B, Scheufele F, Reyes CM, Tieftrunk E, et al. The influence of neural invasion on survival and tumor recurrence in pancreatic ductal adenocarcinoma—A systematic review and meta-analysis. *Surgical Oncology*. 2017.
121. Markov P, Satoi S, Kon M. Redefining the R1 resection in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences*. 2016.
122. Chatterjee D, Katz MH, Foo WC, Sundar M, Wang H, Varadhachary GR, et al. Prognostic Significance of New AJCC Tumor Stage in Patients With Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Treated With Neoadjuvant Therapy. *The American journal of surgical pathology*. 2017;41(8):1097-104.
123. Özdemir BC, Pentcheva-Hoang T, Carstens JL, Zheng X, Wu C-C, Simpson TR, et al. Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer cell*. 2014;25(6):719-34.

124. Sinn M, Denkert C, Striefler J, Pelzer U, Stieler J, Bahra M, et al. α -Smooth muscle actin expression and desmoplastic stromal reaction in pancreatic cancer: results from the CONKO-001 study. *British journal of cancer*. 2014;111(10):1917-23.
125. Bever KM, Sugar EA, Bigelow E, Sharma R, Laheru D, Wolfgang CL, et al. The prognostic value of stroma in pancreatic cancer in patients receiving adjuvant therapy. *Hpb*. 2015;17(4):292-8.
126. Georgiadou D, Sergeantanis T, Sakellariou S, Filippakis G, Zagouri F, Vlachodimitropoulos D, et al. VEGF and Id-1 in pancreatic adenocarcinoma: prognostic significance and impact on angiogenesis. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*. 2014;40(10):1331-7.
127. Ellis L, Takahashi Y, Fenoglio C, Cleary K, Bucana C, Evans D. Vessel counts and vascular endothelial growth factor expression in pancreatic adenocarcinoma. *European journal of cancer*. 1998;34(3):337-40.
128. Prenzel KL, Warnecke-Eberz U, Xi H, Brabender J, Baldus SE, Bollschweiler E, et al. Significant overexpression of SPARC/osteonectin mRNA in pancreatic cancer compared to cancer of the papilla of Vater. *Oncology reports*. 2006;15(5):1397-401.
129. Sinn M, Sinn B, Striefler J, Lindner J, Stieler J, Lohneis P, et al. SPARC expression in resected pancreatic cancer patients treated with gemcitabine: results from the CONKO-001 study. *Annals of Oncology*. 2014;25(5):1025-32.
130. Provenzano PP, Cuevas C, Chang AE, Goel VK, Von Hoff DD, Hingorani SR. Enzymatic targeting of the stroma ablates physical barriers to treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer cell*. 2012;21(3):418-29.
131. Ormanns S, Haas M, Baechmann S, Altendorf-Hofmann A, Remold A, Quietzsch D, et al. Impact of SPARC expression on outcome in patients with advanced pancreatic cancer not receiving nab-paclitaxel: A pooled analysis from prospective clinical and translational trials. *British journal of cancer*. 2016;115(12):1520-9.
132. Gundewar C, Sasor A, Hilmersson KS, Andersson R, Ansari D. The role of SPARC expression in pancreatic cancer progression and patient survival. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2015;50(9):1170-4.
133. Berberat PO, Friess H, Wang L, Zhu Z, Bley T, Frigeri L, et al. Comparative analysis of galectins in primary tumors and tumor metastasis in human pancreatic cancer. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2001;49(4):539-49.
134. Tang D, Zhang J, Yuan Z, Zhang H, Chong Y, Huang Y, et al. PSC-derived Galectin-1 inducing epithelial-mesenchymal transition of pancreatic ductal adenocarcinoma cells by activating the NF- κ B pathway. *Oncotarget*. 2017;8(49):86488.
135. Chen R, Pan S, Ottenhof NA, De Wilde RF, Wolfgang CL, Lane Z, et al. Stromal galectin-1 expression is associated with long-term survival in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer biology & therapy*. 2012;13(10):899-907.
136. Tang D, Wu Q, Zhang J, Zhang H, Yuan Z, Xu J, et al. Galectin-1 expression in activated pancreatic satellite cells promotes fibrosis in chronic pancreatitis/pancreatic cancer via the TGF- β 1/Smad pathway. *Oncology reports*. 2018.
137. Arcolia V, Journe F, Wattier A, Leteurtre E, Renaud F, Gabius H-J, et al. Galectin-1 is a diagnostic marker involved in thyroid cancer progression. *International journal of oncology*. 2017;51(3):760-70.
138. Noda Y, Kishino M, Sato S, Hirose K, Sakai M, Fukuda Y, et al. Galectin-1 expression is associated with tumour immunity and prognosis in gingival squamous cell carcinoma. *Journal of clinical pathology*. 2016;jclinpath-2016-203754.
139. Chong Y, Tang D, Xiong Q, Jiang X, Xu C, Huang Y, et al. Galectin-1 from cancer-associated fibroblasts induces epithelial-mesenchymal transition through β 1 integrin-

mediated upregulation of Gli1 in gastric cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2016;35(1):175.

140. Geiger P, Mayer B, Wiest I, Schulze S, Jeschke U, Weissenbacher T. Binding of galectin-1 to breast cancer cells MCF7 induces apoptosis and inhibition of proliferation in vitro in a 2D-and 3D-cell culture model. *BMC cancer*. 2016;16(1):870.

