



Pankreas Adenokanserli Hastalarda Serum Ekstrasellüler Matriks Proteinlerinin Prognostik ve Prediktif Değerinin Araştırılması

Senem Karabulut¹, Mehmet Karabulut², Halil Alış², Nergiz Dağoğlu³,
Makbule Tambaş³, Selin Kapan², Ebru Oran², Hilal Oğuz⁴, Faruk Taş¹

¹*İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul*

²*Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul*

³*İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul*

ÖZET

Pankreas adenokanserli hastalarda serum ekstrasellüler matriks proteinlerinin prognostik ve prediktif değerinin araştırılması

Amaç: Fibronektin (FN), vitronektin (VTN) ve tip IV kolajen (Kol IV) ekstrasellüler matriks (ECM) proteinleridir. Bu çalışmada pankreas adenokarsinomlu (PA) hastalarda bu moleküllerin serum düzeylerinin klinik önemini belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza patolojik olarak konfirme edilen PA tanılı 33 hasta ile yaş-cinsiyet olarak eşleştirilmiş 30 sağlıklı kontrol alındı. Serum FN, VTN ve Kol IV düzeyleri, enzyim-linked immuno-sorbent assay (ELISA) yöntemiyle değerlendirildi.

Bulgular: Ortanca tanı yaşı 59 (32-84) olarak saptanan hasta grubunun %61'nin cinsiyetinin erkek olduğu görüldü. Hastaların çoğunluğunun (%70) performans durumunun iyi (0-1) olduğu belirlendi. En sık tümör lokalizasyonun pankreasın baş bölgesi (%68) olduğu saptandı. Cerrahi girişim uygulanan 9 (%27) hastanın; 5 (%15)'ine pankreatikoduodenektomi operasyonu ve 4'üne (%12) palyatif cerrahi uygulandı. Serum FN, VTN ve Kol IV düzeyleri, hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla; p=0.001, p=0.007 ve p<0.001). Ayrıca, sarılığı olan hastalarda serum FN (p=0.02) düzeyi, ileri yaştaki hastalarda serum VTN (p=0.03) düzeyi ve ileri yaştaki, metastatik hastalığı ve karaciğer metastazı olan hastalarda Kol IV düzeyi yüksek olarak tespit edildi (sırasıyla, p=0.009, p=0.05 ve p=0.04). Ancak, PA'lı hastalarda serum FN, VTN ve Kol IV düzeyleri ile prognoz arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Sonuç: Serum ECM proteinlerinin PA'lı hastalarda tanısız değeri bulunmaktadır; fakat prediktif ve prognostik değeri yoktur.

Anahtar kelimeler: Pankreas adenokarsinomu, fibronektin, vitronektin, Tip IV kolajen, tanı

ABSTRACT

The predictive and prognostic value evaluation of serum extracellular matrix proteins levels in patients with pancreas adenocarcinoma

Objective: Fibronectin (FN), vitronectin (VTN), and tip IV collagen (Kol IV) are the important components of the extracellular matrix (ECM) proteins. The objective of this study was to determine the clinical significance of serum levels of these molecules in pancreas adenocarcinoma (PA) patients.

Material and Methods: A total of 33 patients with a pathologically confirmed diagnosis of PA and age- and sex-matched 30 healthy controls were enrolled into this study. Serum FN, VTN, and Kol IV concentrations were determined by the enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) method.

Results: The median age at diagnosis was 59 years, range 32 to 84 years where 61% of the patients were male. Majority of the patients (70%) had good performance status (0-1). The most common tumor localization was head of pancreas (68%). Of the 9 patients who undergone surgical intervention, 5 patients (15%) had pancreaticoduodenectomy, while palliative surgery was performed in the remaining 4 (12%) patients. The baseline serum FN, VTN, and Kol IV levels were significantly higher in patients with PA than in the healthy control group (p=0.001, p=0.007 and p<0.001, respectively). Additionally, serum FN levels of the patients with jaundice (p=0.02), serum VTN levels of older patients - (p=0.03), and serum Kol IV levels of older patients, patients with metastasis and liver metastasis presence were detected to be significantly higher compared with others (p=0.009, p=0.05 and p=0.04, respectively). However, serum FN, VTN, and Kol IV levels had no prognostic role for outcome in PA patients (p=0.45, p=0.69 and p=0.11, respectively).

Conclusions: Serum levels of ECM proteins were diagnostic markers in PA patients. However, their predictive and prognostic values were not determined.

Key words: Pancreas adenocarcinoma, fibronectin, vitronectin, Tip IV collagen, diagnosis

Bakırköy Tıp Dergisi 2016;12:24-32

Yazışma adresi / Address reprint requests to: Dr. Senem Karabulut
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Onkoloji Enstitüsü,
Çapa, 34390, İstanbul

Telefon / Phone: +90-212-414-2434

Elektronik posta adresi / E-mail address: drsenemkarabulut@gmail.com

Geliş tarihi / Date of receipt: 28 Mayıs 2015 / May 28, 2015

Kabul tarihi / Date of acceptance: 11 Eylül 2015 / September 11, 2015

GİRİŞ

Pankreas adenokarsinomu (PA); tüm tümörlerin %2'sini oluşturmaktadır; ancak erken semptom vermemesi ve dolayısıyla ileri evrede prezente olması nedeniyle kötü prognoza sahiptir. Batı toplumlarında kanserle ilişkili ölüm nedenleri sıralamasında 4. sıradadır. 5 yıllık sağkalmı oldukça düşüktür ve yaklaşık %5 civarındadır. Günümüzde PA'de tedavi yaklaşımı cerrahi, radyoterapi ve kemoterapiden oluşmaktadır (1). PA; sık invazyon ve metastaz yapan bir tümördür; bu agresif patern, tümör hücrelerinin ekstrasellüler matris (ECM)'e daha sık adezyon, migrasyon, proliferasyon ve metastaz yapabilmelerinin sonucudur (2-8). Benzer şekilde; fibronektin (FN), vitronektin (VTN) ve tip IV kolajen (Kol IV) molekülleri, bazal membranın ana komponentidir ve integrinler/diğer hücre yüzey reseptörleriyle beraber hücrelerin adezyon, migrasyon, diferansiyasyon ve proliferasyonunu organize ederler (2-26). Bu moleküllerin ekspresyon düzeylerindeki artışın, PA'nın proliferasyon ve metastaz potansiyelini arttırdığı bildirilmiştir (2,3,6-8). Ancak, bu bulgular prekli-nik çalışmalarda bulunmuştur ve ECM proteinlerinin plazma/serum düzeylerinin klinik önemini araştıran çalışma sayısı sınırlıdır (4,5). Sonuç olarak, serum ECM proteinlerinin klinik önemi henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, PA hastalarında serum solubl ECM protein düzeylerinin prognoz, klinik değişkenler ve kemoterapi cevabıyla ilişkisi araştırarak; kötü prognozlu bu tümör grubunda tedavi cevabının öngörülmesi dahil, bilgi verebilecek yeni bir marker bulmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, Şubat 2010 ile Temmuz 2013 tarihleri arasında, İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü'ne başvuran, histolojik olarak PA tanısı almış 33 hasta ile yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş 30 sağlıklı kontrol alındı. Çalışma öncesi İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü'nden etik kurulu onayı alındı. Hastaların yaş, cinsiyet, ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performans durumu, kilo kaybı, sarılık, tümör büyüklüğü, tümör lokalizasyonu, metastaz varlığı ve kemoterapi cevabına ait bilgiler hasta dosyalarından kayıt edildi. Tümör lokalizasyonu, cerrahi, endoskopik veya radyolojik olarak belirlendi. Patolojik değerlendirme, cerrahi rezeksiyon ve/veya ince iğne aspirasyon biyopsi materyalinden yapıldı. Metastatik PA'lı hastalarda görüntüleme yöntemi olarak; bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve/veya pozitif emisyon tomografi (PET/CT) kullanıldı. Hastalık evrelemesi, the International Union Against Cancer TNM sınıflandırmasına göre yapıldı.

Metastatik hastalığı olan 23 PA'lı hastanın %87'sine (n=20) kemoterapi, tek ajan ya da kombinasyon şeklinde uygulandı. Tek ajan veya kombinasyon kemoterapisi uygulama kararı, hastanın performans durumuna ve/veya hastalık yaygınlığına göre verildi. Hastaların 5'ine gempitabin-platin, 1'ine gempitabin-kapesitabin, 1'ine kapesitabin-oksalipatin kombinasyonu ve 13'üne ise tek ajan gempitabin tedavisi verildi. Tedavi cevap değerlendirmesi, 2-3 siklüs kemoterapi sonrası RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) kriterleri versiyon 1.1'e göre radyolojik olarak yapıldı. Tam yanıt (TY); tüm hedef lezyonların kaybolması ve yeni lezyon ortaya çıkmaması, parsiyel yanıt (PY); hedef lezyonların çaplarının toplamında en az %30'luk azalma, progresif hastalık (PH); hedef lezyonların çaplarının toplamında %20 ve daha fazla artış olması veya yeni lezyon ortaya çıkması, stabil hastalık (SH) ise; ne kısmi yanıt kadar azalan ne de progresif hastalık kadar artma gösteren hastaları tanımlamak için kullanıldı. TY, PY veya SH cevabı alınan hastalar, tedaviye cevaplı olarak kabul edildi. Metastatik PA'lı hastaların takipleri klinik, laboratuvar, BT veya MRG bulguları ile yapıldı. Çalışmalarda klinik değeri olabileceği bildirilen laboratuvar parametreleri, çalışmamızda değerlendirildi. Serum karsinoembryonik antijen (CEA) ve karbonhidrate antijen (CA) 19-9 düzeyleri micro particle enzyme immuno assay (Abbott Diagnostics, Chicago, IL) ile belirlendi. Serum LDH aktivitesi, 37°C'de kinetik metod kullanılarak Targa-3000 otoanalizer (Pointe Scientific Inc, Lincoln Park, MI, USA) cihazı ile değerlendirildi. Tüm laboratuvar parametreleri kurumumuzdaki normal sınırlara göre belirlendi.

Hasta ve sağlıklı kontrollerden tedavi öncesi; sabah 08.00-10.00 saatleri arasında, antekubital bölgeden 10 ml, 1/9 sitrat kan oranında kan örneği ve 5 ml antikoagülsiz kan örnekleri alındı. On dakika santrifüj edilerek, plazma veya serum örnekleri ayrıldı. Her örnekten 0.5ml'lik plazma ve serum örnekleri eppendorf tüplere konularak gerekli test sayısı tamamlanincaya kadar -80°C'de saklandı.

FN (Bender Med Systems GmbH Vienna Austria), VTN (WUHAN EIAAB Science Co.Ltd, Wuhan,China) ve Kol IV (USCN Life Science Inc, Wuhan, China) serum düzeyleri enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) yöntemiyle belirlendi. Örneklerde her üç test seviyesini belirlemek

için, çift-antikorlu sandviç enzim-bağlantılı imünosorban testi kullanıldı. Serum numuneleri ve standartları, testlere özgü monoklonal antikör ile önceden kaplanmış olan mikrokuyucuklara pipetlendi. İnkübasyondan sonra biyotin ile işaretlenmiş ve Streptavidin-HRP ile birleştirilmiş her iki teste ait antikörler, immün kompleks oluşturması için ilave edildi ve çalışılacak markıra göre 1 veya 2 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Antijenin antikörle bağlanması beklendikten sonra yıkama yapıldı. Renksiz olan bu çözeltinin numunedeki her üç test miktarıyla orantılı yoğunluğu olan renkli çözeltiye dönüşümü için, kromojen çözeltisi ilave edildi. Çözeltinin etkisi ile asidik ortamda renk değişti. İkinci yıkama işleminden sonra substratlar ilave edilerek reaksiyonun tamamlanması beklendi. Reaksiyon durdurulduktan sonra, oluşan renk yoğunluğuna bağlı olarak antijenlerin miktarı 450 nm otomatik ELISA okuyucuda (ChroMate® 4300 microplate awareness technology) okundu. Her üç test için, konsantrasyonları bilinen standartlar yardımıyla, ayrı ayrı standart eğriler çizildi. Her bir örnekteki antijen konsantrasyonları, bu standart eğriler yardımıyla FN düzeyleri µg/mL, VTN ve Kol IV düzeyleri ise ng/mL olarak hesaplandı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 21.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu, analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) incelendi. Tanımlayıcı analizler normal dağılmayan değişkenler için, ortanca ve aralık olarak verildi. Değişkenler, gruplar arasında Mann-Whitney U testi, Student-T testi ve χ^2 testi kullanılarak karşılaştırıldı. Genel sağkalım (GS) süresi, tedavi başlangıç tarihinden son kontrol tarihi veya ölüm tarihine kadar geçen süre olarak belirlendi. Sağkalım analizi ve sağkalım ile histopatolojik bulguların karşılaştırılması için, Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı. Sağkalım farkları log-rank testi ile analiz edildi. p değeri ≤ 0.05 olduğu durumlar, istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Bu çalışmada yer alan hastaların klinikopatolojik ve laboratuvar özellikleri, Tablo 1 ve 2'de özetlendi. Hastaların ortanca yaşının 59 (32-84) olduğu saptandı. Hastaların %61'i erkek, %70'inin performans durumu iyi (0-1) ve %68'inde tümör, pankreas başında lokalizedi. Cerrahi

Tablo 1: Hasta ve hastalık karakteristikleri

Değişkenler	n
Hasta sayısı	33
Yaş, yıl	
Ortanca (aralık)	59 (32-84)
Cinsiyet	
Erkek/kadın	20/13
Performans durumu	
0/1/2/3	4/19/5/5
Kilo kaybı	
Var/yok	26/4
Sarılık	
Var/yok	9/22
Tümör boyutu	
Küçük (<40 mm)/büyük (≥ 40 mm)	14/14
Lokalizasyon	
Baş/korpus-kuyruk	21/10
Kemoterapiye cevap	
Var (PY veya SH)/yok (PH)	9/11
Metastaz	
Var/yok	23/10

PY: parsiyel yanıt, SH: stabil hastalık, PH: progresif hastalık

Tablo 2: Laboratuvar parametreleri

Değişkenler	n
Beaz kan hücresi (WBC)	
Normal (<10.000/mm ³)/yüksek (>10.000/mm ³)	19/11
Hemoglobin (Hb)	
Düşük (<12 g/dl)/normal (>12g/dl)	9/22
Platelet sayısı (PLT)	
Düşük (<150.000/mm ³)/normal (>150.000/mm ³)	5/26
Laktatdehidrogenaz (LDH)	
Normal (<450 IU/ml)/yüksek (>450 IU/ml)	21/8
Albumin	
Düşük (<4 gr/dl)/normal (>4 gr/dl)	10/17
Karsinoembryonikantijen(CEA)	
Normal (<5 ng/ml)/yüksek (>5 ng/ml)	19/10
Karbonhidrate antijen (CA 19-9)	
Normal (<38 U/ml)/yüksek (>38 U/ml)	7/22

uygulanan 9 (%27) hastanın; 5'ine (%15) pankreatikoduodenektomi operasyonu, 4'üne (%12) ise palyatif cerrahi uygulandı. Metastaz bölgesi dağılımının sırasıyla, karaciğer, n=19 (%83); periton, n=5 (%22); batin içi lenfadenopati, n=4 (%17); kemik n=2 (%9), akciğer n=2 (%9), sürrenal n=1 (%4) ve cilt/ciltaltı n=1 (%4) olduğu belirlendi. Metastatik evredeki (n=23, %70) hastaların büyük bir kısmına (n=20, %87) kemoterapi verildi. Kemoterapi alan hastaların %45'inde tedaviye cevap alındı.

PA'lı hastaların incelenen bütün serum ECM protein düzeyleri, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu. PA'lı hastalarda serum FN düzeyinin 482.0 (90.0-950.0) iken, kontrol grubunda 193.0 (58.0-614.0) µg/mL (p=0.001); serum VTN düzeyinin hastalarda 2045.0 (365.4-5587.3) iken, kontrollerde 1207.7 (33.9-3479.2) ng/mL (p=0.007); serum Kol IV düzeyinin hastalar-

Tablo 3: Serum ekstrasellüler matriks protein düzeylerinin hasta ve kontrol olarak değerlendirilmesi

Markırlar	Hasta grubu (n=33)		Kontrol grubu (n=30)		p
	Ortanca	Aralık	Ortanca	Aralık	
Fibronektin (µg/mL)	482.0	90.0-950.0	193.0	58.0-614.0	0.001*
Vitronektin (ng/mL)	2045.0	365.4-5587.3	1207.7	33.9-3479.2	0.007*
Tip IV kolajen (ng/mL)	56.0	29.0-140.0	10.5	3.0-20.0	<0.001*

*p≤0.05

Tablo 4: Serum ekstrasellüler matriks protein düzeylerinin klinikopatolojik değişkenlere göre değerlendirilmesi

Değişkenler	Markır düzeyleri		
	Fibronektin Ortanca (aralık) (µg/mL)	Vitronektin Ortanca (aralık) (ng/mL)	Tip IV kolajen Ortanca (aralık) (ng/mL)
Yaş, yıl (p)	0.76	0.03*	0.009*
Genç (<60)	417 (90-950)	1618.6 (365.4-3632.4)	55.0 (29.0-75.0)
Yaşlı (>60)	482 (128-808)	2369.4 (488.0-5587.3)	60.5 (32.0-140.0)
Cinsiyet (p)	0.75	0.28	0.43
Erkek	493 (104-950)	2311.0 (365.4-4205.0)	55.0 (36.0-95.0)
Kadın	354 (90-834)	1600.7 (488.0-5587.3)	59.0 (29.0-140.0)
Performans durumu (p)	0.41	0.97	0.93
İyi (0-1)	498 (104-950)	1972.4 (365.4-5587.3)	56.0 (29.0-140.0)
Kötü (2-3)	354 (90-808)	2125.2 (488.0-4968.5)	57.0 (44.0-75.0)
Kilo kaybı (p)	0.16	0.66	0.79
Var	418 (90-950)	2178.3 (365.4-5587.3)	58.0 (29.0-140.0)
Yok	662 (336-838)	1634.9 (968.8-3632.2)	55.5 (45.0-80.0)
Sarıklık (p)	0.02*	0.81	0.78
Var	534 (104-950)	2262.9 (488.0-5587.3)	55.0 (44.0-90.0)
Yok	232 (90-804)	1862.6 (365.4-4968.5)	58.0 (29.0-140.0)
Lokalizasyon (p)	0.85	0.14	0.79
Baş	354 (90-950)	2359.1 (365.4-5587.3)	55.0 (36.0-95.0)
Gövde-kuyruk	556 (104-834)	1628.4 (915.2-2665.4)	58.0 (29.0-140.0)
Tümör büyüklüğü	0.40	0.09	0.27
Küçük	332 (116-834)	1402.4 (365.4-4968.5)	59.0 (29.0-140.0)
Büyük	501 (104-950)	2194.1 (1404.6-5587.3)	55.0 (32.0-95.0)
Metastaz (p)	0.36	0.83	0.05*
Var	504 (90-838)	1972.4 (365.4-5587.3)	60.5 (45.0-95.0)
Yok	301 (104-950)	2154.0 (488.0-4968.5)	55.0 (29.0-140.0)
Karaciğer metastazı (p)	0.97	0.99	0.04*
Var	498 (90-838)	1972.4 (365.4-5587.3)	56.0 (32.0-140.0)
Yok	512 (116-730)	1979.9 (1224.7-2369.4)	47.0 (29.0-55.0)
Hb (p)	0.86	0.62	0.98
Düşük	439 (90-950)	1862.6 (626.6-4968.5)	58.0 (32.0-140.0)
Normal	482 (116-838)	2125.2 (365.4-5587.3)	56.0 (29.0-95.0)
WBC (p)	0.17	0.09	0.59
Yüksek	682 (182-834)	1656.1 (365.4-298.6)	59.0 (32.0-140.0)
Normal	367 (90-950)	2311.0 (626.6-5587.3)	55.0 (29.0-95.0)
PLT (p)	0.28	0.99	0.36
Düşük	266 (90-838)	2262.9 (626.6-4205.0)	73.0 (45.0-95.0)
Normal	501 (104-950)	2033.1 (365.4-5587.3)	55.5 (29.0-140.0)
Albumin (p)	0.19	0.98	0.36
Düşük	301 (90-950)	2311.0 (626.6-4968.5)	66.0 (44.0-95.0)
Normal	548 (116-838)	1656.1 (365.4-5587.3)	55.0 (29.0-140.0)
LDH (p)	0.37	0.76	0.13
Yüksek	399 (90-700)	2012.8 (488.0-4205.0)	54.0 (36.0-73.0)
Normal	380 (116-950)	2093.7 (365.4-5587.3)	59.0 (32.0-140.0)
CEA (p)	0.91	0.77	0.12
Yüksek	501 (116-838)	2048.8 (488.0-4205.0)	50.0 (29.0-95.0)
Normal	380 (116-950)	2093.7 (365.4-5587.3)	59.0 (46.0-140.0)
CA 19-9 (p)	0.22	0.60	0.38
Yüksek	431 (116-834)	2109.5 (488.0-5587.3)	55.5 (29.0-140.0)
Normal	548 (182-950)	1404.6 (365.4-3723.4)	59.0 (51.0-95.0)
Kemoterapiye cevap (p)	0.71	0.71	0.26
Var	336 (104-834)	1752.8 (365.4-3904.2)	59.0 (46.0-140.0)
Yok	380 (90-838)	2125.2 (626.6-5587.3)	55.0 (36.0-95.0)

*p≤0.05

Tablo 5: Serum ekstrasellüler matriks protein düzeylerinin genel sağkalım üzerine etkileri

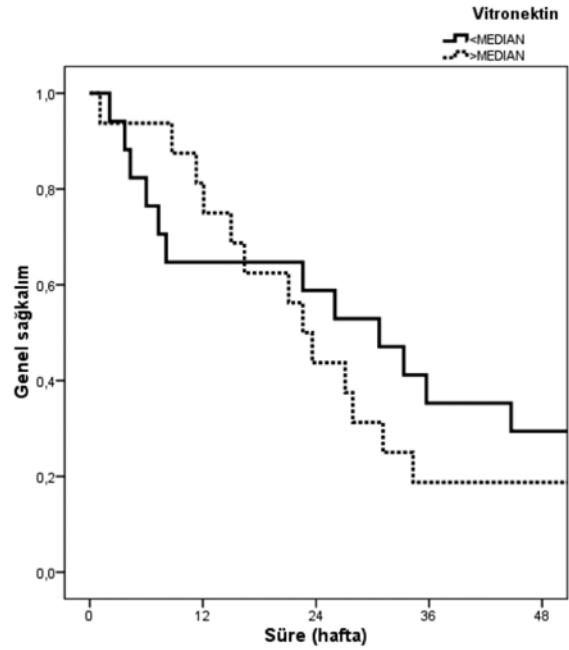
Değişkenler	Ortanca Sağkalım (\pm SD) (hafta)	1-yıllık Sağkalım (%) (\pm SD)	p
Yaş, yıl			
Genç (<60)	58.3 (13.1)	38.9 (11.5)	0.008*
Yaşlı (>60)	21.8 (6.6)	NR	
Cinsiyet			
Erkek	49.9 (12.6)	30.0 (10.2)	0.21
Kadın	29.0 (7.5)	NR	
Performans durumu			
İyi (0-1)	53.6 (10.9)	34.8 (9.9)	0.002*
Kötü (2-3)	15.6 (3.6)	NR	
Kilo kaybı			
Var	36.7 (6.6)	23.1 (8.3)	0.34
Yok	74.5 (41.5)	NR	
Sarılık			
Var	41.6 (18.8)	22.2 (13.9)	0.46
Yok	41.9 (7.8)	27.3 (9.5)	
Lokalizasyon			
Baş	48.3 (11.8)	28.6 (9.9)	0.54
Gövde-kuyruk	34.4 (10.4)	NR	
Tümörbüyükülüğü			
Küçük	42.1 (9.4)	21.4 (11.0)	0.37
Büyük	36.4 (8.9)	NR	
Metastaz			
Var	26.5 (5.9)	NR	0.008*
Yok	76.7 (20.3)	50.0 (15.8)	
Karaciğer metastazı			
Var	30.0 (6.8)	NR	0.02*
Yok	9.5 (4.6)	NR	
Hb			
Düşük	41.1 (11.5)	NR	0.66
Normal	32.1 (7.0)	NR	
WBC			
Yüksek	38.2 (12.2)	NR	0.67
Normal	34.5 (7.2)	22.7 (8.9)	
PLT			
Düşük	27.5 (9.0)	NR	0.59
Normal	37.2 (7.1)	23.1 (8.3)	
Albumin			
Düşük	30.9 (8.8)	NR	0.79
Normal	32.8 (8.7)	NR	
LDH			
Yüksek	24.5 (12.2)	NR	0.06
Normal	38.3 (6.8)	23.8 (9.3)	
CEA			
Yüksek	30.1 (9.4)	NR	0.66
Normal	36.8 (7.7)	26.3 (10.1)	
CA 19-9			
Yüksek	32.5 (6.0)	NR	0.63
Normal	40.8 (16.0)	NR	
Kemoterapiye cevap			
Var	48.1 (11.4)	NR	0.03*
Yok	23.1 (8.9)	NR	
Fibronektin			
<Ortanca	33.6 (6.9)	NR	0.45
>Ortanca	50.3 (15.4)	31.3 (11.6)	
Vitronektin			
<Ortanca	45.6 (12.0)	29.4 (11.)	0.69
>Ortanca	33.5 (8.1)	NR	
Tip IV kolajen			
<Ortanca	32.4 (11.1)	NR	0.11
>Ortanca	47.5 (9.3)	37.5 (12.1)	

*p \leq 0.05, NR: ulaşılamadı, SD: standart sapma

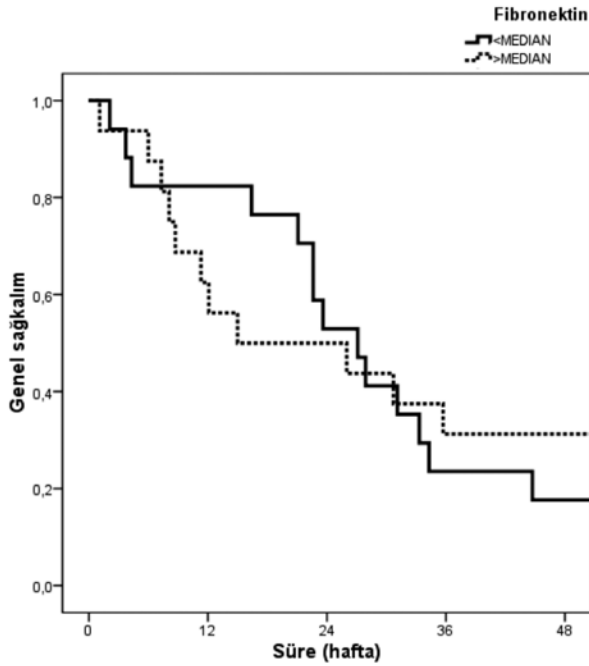
da 56.0 (29.0-140.0) iken, kontrollerde 10.5 (3.0-20.0) µg/mL ($p<0.001$) olduğu saptandı (Tablo 3).

Serum FN düzeyi ile sarılık mevcudiyeti ($p=0.02$), serum VTN düzeyi ile ileri yaş ($p=0.03$), serum Kol IV düzeyi ile ileri yaş, metastatik hastalık ve karaciğer metastazı varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi; bu grup hastalarda serum markır düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (sırasıyla, $p=0.009$, $p=0.05$ ve $p=0.04$) (Tablo 4).

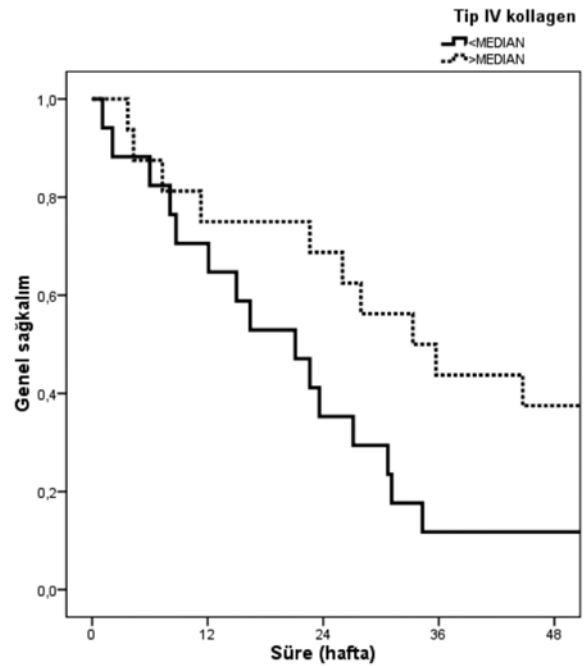
Ortanca 26 (1-184) haftalık takip süresinin sonunda, tüm hastalar hastalık nedeniyle yaşamını yitirdi. Ortanca GS 42 [%95 Güven Aralığı (GA): 26-58] hafta, 1 yıllık GS oranı ise %24 (%95 GA: 10-39) olarak hesaplandı. İleri yaş, performans durumu düşüklüğü, metastatik hastalık ve kemoterapi cevapsızlığının GS süresi üzerine olumsuz etkili faktörler olduğu belirlendi (sırasıyla, $p=0.008$, $p=0.002$, $p=0.008$ ve $p=0.03$) (Tablo 5). Serum FN, VTN ve Kol IV düzeylerinin, GS üzerine etkisi olmadığı saptandı (sırasıyla, $p=0.45$, $p=0.69$ ve $p=0.11$) (Şekil 1-3).



Şekil 2: Serum vitronektin düzeylerinin genel sağkalım üzerine etkisi ($p=0.69$)



Şekil 1: Serum fibronektin düzeylerinin genel sağkalım üzerine etkisi ($p=0.45$)



Şekil 3: Serum Tip IV kolajen düzeylerinin genel sağkalım üzerine etkisi ($p=0.11$)

TARTIŞMA

Hücrel adezyon, migrasyon, büyüme ve sağkalımın düzenlenmesi; tümör hücreleri ve ECM arasındaki sinyal yollarını dolayısıyla adeziv iletilişimlerle sağlanmaktadır. Hücrel adezyon, integrinler ve adezyondan sorumlu

hücre yüzey reseptör ailesi tarafınca kontrol edilmektedir. Adezyon için, adeziv substratlar ile aktin yapıları hücre iskeleti arasında bağlantı kurulması şarttır (2-26). PA gelişiminde, adezyon moleküllerinin ekspresyon düzeyindeki değişikliklerin etkili olduğu bildirilmiştir (2,3,6-8). Aynı

ca, diğer tümörlerde de ECM proteinlerinin hem diagnostik hem de prognostik role sahip olduğu gösterilmiştir (4,5,9-26).

ECM proteinlerinin PA'da önemini araştıran ilk çalışma, 1994 yılında yapılmış olan bir hücre kültür çalışmasıdır. Bu çalışmada ECM proteinlerinin düzeyleri araştırılmış; tüm ECM protein alt grupların yüksek düzeyde sentezlendiği, ancak farklı alt grupların sentezinin farklı düzeylerde olduğu saptanmıştır. Bu çalışma, ECM proteinlerinin PA'da etkin markır olarak kullanılabilceğini düşündüren ilk çalışmadır (2). Bir diğer çalışmada ise, PA hücre serilerinde ECM proteinlerinin devamlı varlığının, perinöral tümör invazyonuyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir (3). Ancak, tüm bu gelişmelere rağmen ECM proteinlerinin PA ile ilişkisi hakkında mevcut klinik bilgilerimiz kısıtlıdır (2-8).

FN, birçok biyolojik kontrol mekanizmasında etkili, ECM'in önemli integrin ligandlarından biridir. Birçok tümör türünde etkili olduğu bildirilmiştir. Çeşitli tümör gruplarında serumdaki hücre FN düzeylerini araştıran ilk çalışmada, serum düzeylerinin gastrointestinal sistemden kaynaklı tümörlerde en yüksek oranda olduğu saptanmıştır (4). Ayrıca, bir diğer çalışmada ise, gastrointestinal tümörler arasında serum FN değeri yüksekliğinin, en sık hepato-bilyer ve pankreas tümörlerinde olduğu gösterilmiştir (%50-67). Serum hücre FN düzeylerinin; sensitivite açısından CA 19-9 ve CEA ile karşılaştırıldığında, hepatosellüler ve lokal ileri kolorektal kanserlerde daha üstün olduğu, ancak PA ve safra yolu kanserlerinde CA 19-9'a göre daha az etkin olduğu tespit edilmiştir (5). Pankreas kanserinde yüksek FN ekspresyonunun, transforming growth factor beta (TGF- β) ile beraber, fibrozise yol açan pankreatik stallet hücrelerini uyararak, desmoplastik stroma ve fibrozis oluşumunda primer rol oynadığı bildirilmiştir (6).

Kol IV; bazal membranda bulunan bir ECM proteindir. Yüksek Kol IV ekspresyonun, pankreatitin PA'dan ayrımında kullanılabilceği, dolayısıyla tanısal bir markır olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, bir diğer çalışmada PA'da tanısal değerine ek olarak; sağkalım üzerine prognostik rolü de olduğu gösterilmiştir (7,8).

ECM proteinlerinin diğer tümörlerdeki bulgularına bakıldığında; meme tümöründe, FN ekspresyonu ECM metalloproteaz ve diğer inhibitörlerle beraber değerlendirilmiş; yüksek ekspresyon düzeyinin uzak metastazla ilişkili olduğu ve sağkalım üzerinde olumsuz etkisi bulunduğu bildirilmiştir (9). Benzer şekilde endometrium kanserinde FN gen ekspresyonunu değerlendiren diğer bir

çalışmada, azalan osteonektin ve FN gen ekspresyonu düzeyinin, hastalığın gelişimi ve progresyonunda etkili olduğu tespit edilmiştir (10).

ECM proteinlerinin over tümörleri ile ilişkisini araştıran çalışmalar değerlendirildiğinde, bu konu ile ilgili yapılan bir çalışmada, FN ekspresyonu 17 epitelyal over kanseri, 4 seks-kord stromal tümör, 2 germ hücreli tümör, 5 benign over tümörü ve 5 normal over dokusunda, matris metalloproteinaz (MMP)-9 ve MMP-2 ile beraber değerlendirilmiş; MMP-2 ve MMP-9 aktivasyonun normal over dokusunda olmadığı, dolayısıyla tümörlü dokunun normal dokudan ayırmada etkin olduğu, ancak bu iki molekülün benign veya malign over tümörünü ayırmada yetersiz olduğu bildirilmiştir. Ayrıca MMP-9 aktivitesinin; kötü diferansiye tümörde, ileri evre hastalıkta ve nüks durumunda yüksek olduğu bulunmuştur (11). Ek olarak; over kanserinde yapılmış diğer bir çalışmada, tümöre bağlı malign asitte FN ve VTN'nin yüksek düzeyde ekspresyonu tespit edilmiş ve böylece hastalığın progresyonunda etkin oldukları gösterilmiştir (12).

Malign melanom (MM)'lu hastalarda serum FN ve VTN düzeylerinin klinik önemini araştıran bir çalışmada, her iki molekülün de tanısal açıdan değerli makırlar olduğu ortaya konmuştur (13). Sabatino ve arkadaşları yaptığı çalışmada, MM ve böbrek hücreli karsinom hastalarında, yüksek doz IL-2 tedavisi öncesi serum FN ve vasculer cell growth faktör (VEGF) düzeyleri ölçülmüş; bu moleküllerin tedavi sonuçlarını belirlemede etkili oldukları bildirilmiştir (14). Diğer tümörlerdeki benzer şekilde; 34 değişici epitel hücreli mesane tümörlü hastanın doku FN düzeylerinin, normal dokuya göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (15).

Özofagus skuamöz hücreli karsinomda, mezenkimal markırlar olarak doku FN ve VTN'nin ekspresyon düzeyleri değerlendirildiği bir çalışmada, yüksek ekspresyon düzeylerin prognoz üzerine etkili olduğu bildirilmiştir (16). Saito ve arkadaşları yaptığı çalışmada ise, 113 kolorektal kanserli hastada serum ve idrar FN ekspresyon düzeyleri değerlendirmiştir. Çalışmada 21 metakron ve 15 senkron karaciğer metastazlı hastanın sonuçlarına bakıldığında; FN'nin yüksek ekspresyonun metakron karaciğer metastazını saptamada %80.0 sensitiviteye, %33.3 spesifiteye, %66.6 doğruluğa ve %75 pozitif prediktif değere sahip olduğu saptanmıştır. Serum ve idrar FN düzeylerinin, kolorektal kanserde tümörün büyüme ve gelişiminde rol oynadığı, ayrıca progresyonu saptamada iyi markır olduğu ortaya konmuştur (17).

Çeşitli kanser tiplerinde adezyon ve migrasyonda etkili glikoprotein yapıda bir molekül olan VTN'nin, kolorektal ve hepatosellüler kanserlerinin hücre kültür çalışmalarında, bu tümörlerde yüksek düzeyde ekspresyonu olduğu bulunmuştur (18,19).

Bir diğer ECM proteini olan Kol IV'ün pankreas dışı tümörlerle ilişkisi araştıran çalışmalara bakıldığında, yüksek düzeyde ekspresyonunun; oral skumöz hücreli tümörlerde tanısal değeri olduğu ve kötü diferansiye tümörle ilişkili olduğu bildirilmiştir (20). Benzer şekilde, yassı epitel hücreli akciğer tümöründe de tanısal değeri olduğu ve invazyon/metastazla ilişkili olduğu gösterilmiştir (21). Küçük hücre dışı akciğer kanserinde Kol IV 'ün etkinliğini araştıran bir diğer çalışmada da ek olarak; Kol IV ve integrinlerin ekspresyonu değerlendirilmiş; yüksek integrin alpha 5 ve düşük Kol IV ekspresyonunun, lenf nodu metastazını predikte ettiği, dolayısıyla bu tümörde bu iki markırın prognostik değeri olduğu saptanmıştır (22). Yüksek Kol IV ekspresyonunun; meme kanserinde tanısal ve prognostik değeri; serviks kanserinde ise tanısal değeri, lenfovasküler invazyon ve lenf nodu tutulumu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (23,24). Aynı şekilde, yüksek Kol IV ekspresyonunun; kolorektal kanserlerde tanısal değeri olduğu, karaciğer metastaz gelişimini predikte ettiği; ayrıca gastrik kanserlerde tanısal değerinin

olduğu bulunmuştur (25,26).

Çalışmamızda, bazal serum ECM protein düzeylerinin, PA'lı hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğunu tespit edildi. Ayrıca, ECM protein düzeyleriyle klinik değişkenler arasında anlamlı ilişki olduğunu belirlendi. Serum FN düzeyinin sarılık varlığında, serum VTN düzeyinin ileri yaşta, serum Kol IV düzeyinin ileri yaşta, metastatik hastalıkta ve karaciğer metastazı varlığında anlamlı olarak yüksek olduğunu saptandı. Ancak PA hastalarında ECM proteinlerinin, sağkalım üzerinde etkisi bulunamadı. Bu bulgularla, araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçların literatür sonuçları ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Bu çalışmayla PA hastalarında serum ECM proteinlerinin diagnostik bir markır olarak kullanılabileceğini gösterildi. Ancak, bu moleküllerin serum düzeylerinin prognostik değeri olduğu tespit edilemedi. Değerlendirilen hasta sayısının azlığı ve tedavi öncesi markır düzeyleri ile birlikte tedavi sonrası markır düzeylerinin değerlendirilememesi, çalışmamızın sınırlayıcı yönüdür. Gelecekte PA'lı hastalardan sistemik tedavi öncesi, ortası ve sonunda elde edilen serumlarda ölçülen ECM protein düzeylerindeki değişiminin tespitine olanak sağlayan, daha geniş hasta katılımının sağlandığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer J Clin 2008; 58: 71-96.
- Löhr M, Trautmann B, Göttler M, et al. Human ductal adenocarcinomas of the pancreas express extracellular matrix proteins. Br J Cancer 1994; 69: 144-151.
- Ryschich E, Khamidjanov A, Kerkadze V, et al. Promotion of tumor cell migration by extracellular matrix proteins in human pancreatic cancer. Pancreas 2009; 38: 804-810.
- Yläupa S, Haglund C, Mertaniemi P, et al. Cellular fibronectin in serum and plasma: a potential new tumour marker? Br J Cancer 1995; 71: 578-582.
- Haglund C, Yläupa S, Mertaniemi P, et al. Cellular fibronectin concentration in the plasma of patients with malignant and benign diseases: a comparison with CA 19-9 and CEA. Br J Cancer 1997; 76: 777-783.
- Ellenrieder V, Schneiderhan W, Bachem M, et al. Fibrogenesis in the pancreas. Roczn Akad Med Białymst 2004; 49: 40-46.
- Lee CS, Montebello J, Georgiou T, et al. Distribution of type IV collagen in pancreatic adenocarcinoma and chronic pancreatitis. Int J ExpPathol 1994; 75: 79-83.
- Ohlund D, Lundin C, Ardnor B, et al. Type IV collagen is a tumour stroma-derived biomarker for pancreas cancer. Br J Cancer 2009; 101: 91-97.
- Fernandez-Garcia B, Eiró N, Marín L, et al. Expression and prognostic significance of fibronectin and matrix metalloproteases in breast cancer metastasis. Histopathology 2014; 64: 512-522.
- Futyma K, Kubiawski T, Rózyńska K, et al. Decreased osteonectin and fibronectin gene expression in endometrial cancer as a prognostic marker. Ginekol Pol 2009; 80: 907-913.
- Demeter A, Szirmai K, Oláh J, et al. Elevated expression of matrix metalloproteinase-9, and fibronectin concentration in recurrent epithelial ovarian cancer. Orv Hetil 2004; 145: 1617-1624.
- Carduner L, Agniel R, Kellouche S, et al. Ovarian cancer ascites-derived vitronectin and fibronectin: combined purification, molecular features and effects on cell response. Biochim Biophys Acta 2013; 1830: 4885-4897.
- Tas F, Karabulut S, Bilgin E, et al. Clinical significance fibronectin and vitronectin levels in melanoma patients. Melanoma Res 2014; 24: 475-479.
- Sabatino M, Kim-Schulze S, Panelli MC, et al. Serum vascular endothelial growth factor and fibronectin predict clinical response to high-dose interleukin-2 therapy. J Clin Oncol 2009; 27: 2645-52.
- Kirkali G, Tüzel E, Güler C, et al. Significance of tissue laminin P (1) elastase and fibronectin levels in transitional cell carcinoma of the bladder. Eur Urol 2001; 39: 292-299.

16. Sudo T, Iwaya T, Nishida N, et al. Expression of mesenchymal markers vimentin and fibronectin: the clinical significance in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: S324-335.
17. Saito N, Nishimura H, Kameoka S. Clinical significance of fibronectin expression in colorectal cancer. *Mol Med Rep* 2008; 1: 77-81.
18. Tomasini-Johansson BR, Sundberg C, Lindmark G, et al. Vitronectin in colorectal adenocarcinoma--synthesis by stromal cells in culture. *Exp Cell Res* 1994; 214: 303-312.
19. Zhu W, Li W, Yang G, et al. Vitronectin silencing inhibits hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *Future Oncol* 2015; 11: 251-258.
20. Agarwal P, Ballabh R. Expression of type IV collagen in different histological grades of oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study. *J Cancer Res Ther* 2013; 9: 272-275.
21. Nakagawa H, Yagihashi S. Expression of type IV collagen and its degrading enzymes in squamous cell carcinoma of lung. *Jpn J Cancer Res* 1994; 85: 934-938.
22. Yang Z, Xu S, Zhang H, et al. Expression of Integrins and Extracellular Matrix Proteins in Non-small Cell Lung Cancer: Correlation with Tumor Metastasis and Prognosis. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi* 2009; 12: 397-402.
23. De Iorio P, Midulla C, Pisani T, et al. Implication of laminin and collagen type IV expression in the progression of breast carcinoma. *Anticancer Res* 2001; 21: 1395-1399.
24. Smrkolj S, Erzen M, Rakar S. Prognostic significance of topoisomerase II alpha and collagen IV immunoexpression in cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2010; 31: 380-385.
25. Nyström H1, Naredi P, Hafström L, et al. Type IV collagen as a tumour marker for colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol* 2011; 37: 611-617.
26. Ruan HL, Hong RT, Xie HJ, et al. Significance of elevated levels of collagen type IV and hyaluronic acid in gastric juice and serum in gastric cancer and precancerous lesion. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2001-2008.