

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

**PANKREASIN DUKTAL ADENOKARSİNOMUNDA
KLİNİKOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME**

**UZMANLIK TEZİ
DR. DUYGU AKÇA**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. NEŞE ÇALLI DEMİRKAN**

DENİZLİ – 2022

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

**PANKREASIN DUKTAL ADENOKARSİNOMUNDA
KLİNİKOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME**

**UZMANLIK TEZİ
DR. DUYGU AKÇA**

**TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. NEŞE ÇALLI DEMİRKAN**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 27/10/2020 tarih ve 2020TIPF024 sayılı kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ – 2022

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, başta tez danışmanım Prof. Dr. Neşe Çallı Demirkan olmak üzere değerli hocalarım Prof. Dr. Ferda Bir, Prof. Dr. Nagihan Yalçın, Prof. Dr. Nilay Şen Türk, Doç. Dr. Yeliz Arman Karakaya, Dr. Öğr. Üyesi Emel Kılıçarslan, Dr. Öğr. Üyesi Erdem Çomut ve Dr. Öğr. Üyesi Gülsün Gülten'e;

Asistanlık hayatım boyunca birlikte çalışmaktan çok mutlu olduğum ve desteklerini her zaman hissettiğim asistan arkadaşlarım Dr. Hayriye Canik Yaşar, Dr. Hatice Kuzular, Dr. Hatice Er, Dr. Ayşegül Görmez, Dr. Merve Bozkurt, Dr. Ubeydullah Öztürk, Dr. Nursinem Alkan, Dr. Hande Karabaş, Dr. Hale Apaydın, Dr. Selma Aybike İşbilir'e ve Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'nda çalışan tüm laboratuvar ekibine;

Hayatım boyunca beni destekleyen ve tüm zor zamanlarımda yanımda olan sevgili annem Makbule Akça ve babam Recai Akça başta olmak üzere tüm aileme sonsuz teşekkürlerimle...

Dr. Duygu Akça

Mart 2022

Denizli

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iv
KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ÖZET.....	x
İNGİLİZCE ÖZET	xii
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER	4
PANKREAS HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	4
Embriyoloji	4
Anatomi	5
Histoloji	7
PANKREAS TÜMÖRLERİ SINIFLANDIRILMASI.....	9
PANKREAS TNM SINIFLAMASI.....	11
PDAC HAKKINDA GENEL BİLGİLER	12
Epidemiyoloji:	12
Etiyoloji:	12
Lokalizasyon ve Makroskopik Özellikler:.....	12
Histopatoloji:	13
Pankreas Duktal Adenokarsinomu Histolojik Subtipleri:.....	14
İmmünohistokimyasal Panel:.....	14
Genetik:.....	15
Moleküler Patoloji:	15
Prekürsör Lezyonlar, PanIN ve Karsinogenez:.....	16
Tümör Mikroçevresi ve Laktat Metabolizması	17
Epitelyal Mezenkimal Geçiş:.....	19
BU ÇALIŞMADA KULLANILAN ANTİKORLAR HAKKINDA BİLGİLER ..	21
MCT1 ve MCT4	21
SMAD4.....	23
Düz Kas Aktin	25
Vimentin	26
CD10.....	26

Ki-67	27
GEREÇ VE YÖNTEM	28
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL MARKER DEĞERLENDİRME METODLARI	31
İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	32
BULGULAR:.....	33
KLİNİKOPATOLOJİK BULGULAR	33
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR	36
SAĞKALIM ANALİZİ.....	43
Genel Sağkalım Analizi	43
Progresyonsuz Sağkalım Analizi	47
TARTIŞMA	51
SONUÇLAR	64
KAYNAKÇA.....	65

KISALTMALAR

AJCC	: American Joint Committee of Cancer
CAF	: Kanser ilişkili fibroblast
CSC	: Kanser kök hücresi
ECM	: Ekstraselüler matriks
EGFR	: Epitelyal büyüme faktörü reseptörü
EMT	: Epitelyal mezenkimal geçiş
EMT-TF	: EMT indükleyici transkripsiyon faktör
FAP	: Fibroblast aktivasyon proteini
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FGFR	: FGF reseptörü
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
HGFR	: HGF reseptörü
HIF	: Hipoksi ile indüklenen faktör
ICGC	: İnternational Cancer Genome Consortium
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IGF1R	: IGF1 reseptörü
IPMN	: İntraduktal papiller müsinöz neoplazm
MET	: Mezenkimal epitelyal geçiş
MCN	: Müsinöz kistik neoplazm
MCT	: Monokarboksilat taşıyıcı
PanIN	: Pankreatik intraepitelyal neoplazi
PDGF	: Platelet derive büyüme faktörü
PDAC	: Pankreas Duktal Adenokarsinomu
TAM	: Tümör ilişkili makrofaj
TCGA	: The Cancer Genome Atlas
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
TME	: Tümör mikroçevresi
Vİ	: Venöz invazyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Pankreas gelişim evreleri (5.-8. Haftalar)	4
Şekil 2: Pankreas yerleşimi ve komşulukları	6
Şekil 3: Pankreas ana ve aksesuar duktusları	6
Şekil 4: Egzokrin pankreatik duktus sistemi	8
Şekil 5: Karsinogenezde erken ve geç dönem genetik değişiklikler	17
Şekil 6: Tümör mikroçevresi ve laktat metabolizması	19
Şekil 7: Tümörde EMT ve MET mekanizması.....	21
Şekil 8: Kanserde laktat değişimine dayalı metabolik simbiyoz ve kommensalizm. 23	
Şekil 9: PDAC’de farklı diferansiyasyon alanları	30
Şekil 10: PDAC’de invazyon örnekleri	30
Şekil 11: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı vimentin ekspresyonları	36
Şekil 12: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı CD10 ekspresyonları.....	37
Şekil 13 İmmünohistokimyasal yöntemle düz kas aktin ekspresyonu.....	37
Şekil 14: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı Ki67 ekspresyonları	38
Şekil 15: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı MCT1 ekspresyonları.....	38
Şekil 16: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı MCT4 ekspresyonları.....	39
Şekil 17: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı SMAD4 ekspresyonları.....	39
Şekil 18: LVİ ve vimenin ile tümörde pozitif ekspresyon.....	42
Şekil 19: LVİ ve yüksek Ki67 proliferasyon indeksi	42

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: WHO 2019 Pankreas Tümörleri Sınıflaması	9
Tablo 2: AJCC 8. baskıya göre pankreas tümörü TNM sınıflaması	11
Tablo 3: AJCC 8. baskıya göre prognostik evre grupları.....	11
Tablo 4: Çalışmamızda kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerin özellikleri	29
Tablo 5: Klinikopatolojik özelliklerin dağılımı	34
Tablo 6: İmmünohistokimyasal ekspresyon bulguları	40
Tablo 7: H skoru ve Ki67 ekspresyon bulguları	40
Tablo 8: MCT1 tümör hücresi ekspresyon şiddeti ile tümör boyutunun karşılaştırılması	41
Tablo 9: Metastaz olan ve olmayan olgularda SMAD4 ile tümör hücresi ekspresyon oranı karşılaştırılması	41
Tablo 10: LVİ ile vimentin tümör hücresi ekspresyon oranı karşılaştırılması	42
Tablo 11: LVİ ile Ki67 oranları karşılaştırılması	42
Tablo 12: LVİ ile tümör boyutunun karşılaştırılması	43
Tablo 13: Genel Sağkalım.....	44
Tablo 14: LVİ ile genel sağkalım ilişkisi	44
Tablo 15: MCT1 tümörde ekspresyon oranı ile genel sağkalım ilişkisi.....	45
Tablo 16: Ki67 oranı ile genel sağkalım ilişkisi.....	45
Tablo 17: Genel sağkalım için Tek değişkenli Cox regresyon analizi.....	46
Tablo 18: Genel sağkalım için çok değişkenli Cox regresyon analizi.	46
Tablo 19: Progresyonsuz sağkalım	47
Tablo 20: Metastaz ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi.....	48
Tablo 21: Karaciğer metastazı ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi	48
Tablo 22: Cerrahi sınır devamlılığı ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi	49
Tablo 23: Progresyonsuz Sağkalım için Tek değişkenli Cox regresyon analizi	49
Tablo 24: Progresyonsuz Sağkalım için çok değişkenli Cox regresyon analizi.....	50

ÖZET

Pankreasın Duktal Hücreli Adenokarsinomunda Klinikopatolojik Değerlendirme

Dr. Duygu AKÇA

Pankreas Duktal Adenokarsinomu (PDAC) oldukça kötü prognoza sahip, sık ve erken metastazla sonuçlanan, kemoterapi ve radyoterapiye direnç gösterme potansiyeli yüksek olan agresif bir neoplazidir. PDAC erkek ve kadınlarda en sık görülen 7. kanser türüdür ve her sene insidansı artış göstermektedir. 5 yıllık sağkalım oranı %8'dir. Hastalar genellikle 55- 85 yaş arasında tanı alır ve hafif bir erkek baskınlığı olmakla beraber erkek:kadın oranı 1,1:1 dolayındadır. Tümör komşuluğunda yüksek dereceli PanIN varlığının gösterilmesi prognoz açısından önemlidir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda PDAC gelişiminde etkili olan moleküler değişiklikler detaylı olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca PanIN lezyonlarının PDAC'de meydana gelen moleküler değişikliklerin çoğunu barındırdığı gösterilmiştir. SMAD4 kaybı PDAC'de meydana gelen en karakteristik moleküler olaylardan biridir ve SMAD4 kaybı bulunmasının kötü prognoz ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Tümör mikro çevresi (TME) kavramı, kanser hücrelerini çevreleyen ve tümör gelişim sürecinde etkiye sahip stromal bileşenleri kapsar. TME'nin önemli bileşenlerinden olan kanser ilişkili fibroblastlar (CAF) ve tümör ilişkili makrofajların (TAM) sayıca fazla olmasının prognoz ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. CAF'ları göstermede düz kas aktin, TAM'ları göstermede ise CD10 yardımcı antikorlardır. Tümör hücrelerindeki aberran metabolizma nedeniyle yüksek oranda oksijen ve besin tüketimi sonucunda TME'de yüksek seviyelerde metabolik yan ürün birikimi gerçekleşir. Bu metabolitlerden laktat, tümör büyümesi ve metabolik kaçıışı destekleyici özelliktedir. Tümör hücreleri tarafından üretilen laktat, monokarboksilat taşıyıcılar (MCT) tarafından hücre dışı aralığa salınır. Çeşitli solid tümörlerde MCT1 ve MCT4 ekspresyonlarının prognoz ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Epitelyal mezenkimal geçiş (EMT), epitelyal hücrelerin invazyon ve migrasyon yeteneği kazandıkları mezenkimal fenotipe dönüşmeleri durumudur ve çeşitli solid tümörde, tümör invazyonu ve metastazı gibi patolojik süreçlerde rol aldığı

gösterilmiştir. EMT'ye maruz kalan tümör hücreleri epitel özelliklerini kaybederken mezankimal özellikler kazanırlar. Vimentin ve Düz kas aktin, tümörde EMT'yi gösteren belirteçlerdendir. Ki67'nin tümör dokusunda ekspresyonu, tümör proliferasyonunu gösteren iyi bilinen bir belirteçtir ve birçok tümörün ilerlemesi, metastazı ve prognozu ile ilişkilidir. Bahsedilen bu belirteçler ile ilgili literatürde birçok çalışma yapılmış olup bazılarında çelişkili sonuçlar mevcuttur.

Çalışmaya Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda Aralık 2002- Ocak 2020 yılları arasında Whipple prosedürü, distal pankreatektomi, pankreas eksizyonel biyopsi ve pankreas insizyonel biyopsi materyallerinde raporlanan, PDAC tanısı alan 88 olgu dahil edildi. Bu olgulara ait klinikopatolojik parametreler, sağkalım parametreleri ile vimentin, CD10, Düz kas aktin, MCT1, MCT4, SMAD4, Ki67 ekspresyonları arasındaki ilişki incelendi.

Çalışmamız sonucunda lenfovasküler invazyon (LVİ) varlığı istatistiksel olarak genel sağkalımı kısaltmaktadır ($p<0,05$). Herhangi bir bölgeye metastaz ve karaciğer metastazı progresyonsuz sağkalımı kısaltmaktadır (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,01$). Cerrahi sınırdaki tümörün devamlılık göstermesi durumunda progresyonsuz sağkalım kısaltmaktadır ($p<0,05$). Tümörde yüksek oranda MCT1 ekspresyonu genel sağkalım için bağımsız bir prognostik belirteçtir ($p<0,01$). Tümörde şiddetli MCT1 ekspresyonu daha büyük tümör boyutu ile ilişkilidir ($p<0,05$). LVİ bulunan olgularda vimentin pozitifliği daha fazladır ($p<0,05$). Metastaz bulunan olgularda SMAD4 kaybı daha fazladır ($p<0,05$). Ki67'nin %50'nin üzerinde olması genel sağkalımı kısaltmaktadır ($p<0,01$). LVİ olan olgularda Ki67 proliferasyon indeksi daha yüksektir ($p<0,01$). LVİ bulunan olgularda tümör boyutu daha büyüktür ($p=0,05$).

Sonuç olarak, çalışmamızda PDAC'de MCT1 ekspresyonu, vimentin ekspresyonu, SMAD4 kaybı ve yüksek Ki67 proliferasyon indeksinin PDAC'de kötü prognoz ile ilişkili olduğu yorumlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Pankreas Duktal Adenokarsinomu, Epitelyal Mezenkimal Geçiş, SMAD4, MCT, Ki67

İNGİLİZCE ÖZET

Clinicopathological Evaluation In Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

Dr. Duygu Akça

Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC) is an aggressive neoplasm with a very poor prognosis, resulting in frequent and early metastases, and a high potential to resist chemotherapy and radiotherapy. PDAC is the 7th most common cancer in men and women and its incidence is increasing every year. The 5-year survival rate is 8%. Patients are usually diagnosed between the ages of 55 and 85, and although there is a slight male predominance, the male: female ratio is around 1.1:1. Demonstrating the presence of high-grade PanIN adjacent to the tumor is important for prognosis. In recent studies, molecular changes that are effective in the development of PDAC are described in detail. It has also been shown that PanIN lesions harbor most of the molecular changes that occur in PDAC. SMAD4 loss is one of the most characteristic molecular events in PDAC, and studies are showing that the presence of SMAD4 loss is associated with poor prognosis. The concept of the tumor microenvironment (TME) encompasses the stromal components that surround cancer cells and affect the tumor development process. There are studies showing that the high number of cancer-associated fibroblasts (CAF) and tumor-associated macrophages (TAM), which are important components of TME, are associated with prognosis. Smooth muscle actin to show CAFs and CD10 to show TAMs are auxiliary antibodies. High levels of metabolic by-product accumulation occur in TME as a result of high oxygen and nutrient consumption due to aberrant metabolism in tumor cells. Among these metabolites, lactate supports tumor growth and metabolic escape. Lactate produced by tumor cells is released into the extracellular space by monocarboxylate transporters (MCTs). It has been shown that MCT1 and MCT4 expressions in various solid tumors may be associated with prognosis. Epithelial mesenchymal transition (EMT) is the transformation of epithelial cells to a mesenchymal phenotype in which they gain the ability to invade and migrate, and it has been shown to be involved in pathological processes such as tumor invasion and metastasis in various solid tumors. Tumor cells exposed to EMT lose their epithelial properties and gain mesenchymal properties. Vimentin and Smooth muscle actin are markers that show EMT in the tumor. The

expression of Ki67 in tumor tissue is a well-known marker of tumor proliferation and is associated with progression, metastasis and prognosis of many tumors. Many studies have been conducted in the literature on these markers, and some have conflicting results.

The study included 88 cases diagnosed with PDAC, which were reported in Whipple procedure, distal pancreatectomy, pancreatic excisional biopsy and pancreatic incisional biopsy materials between December 2002 and January 2020 in Pamukkale University Faculty of Medicine, Department of Medical Pathology. The relationship between clinicopathological parameters, survival parameters, and vimentin, CD10, Smooth muscle actin, MCT1, MCT4, SMAD4, and Ki67 expressions of these cases were examined.

As result of our study, the presence of lymphovascular invasion (LVI) statistically shortens the overall survival ($p<0.05$). Metastasis to any site and liver metastasis shortens progression-free survival ($p<0.001$, $p<0.01$, respectively). If the tumor persists at the surgical margin, progression-free survival is shortened ($p<0.05$). High MCT1 expression in the tumor is an independent prognostic marker for overall survival ($p<0.01$). Intense MCT1 expression in the tumor is associated with a larger tumor size ($p<0.05$). Vimentin positivity is higher in cases with LVI ($p<0.05$). SMAD4 loss is higher in cases with metastasis ($p<0.05$). If the Ki67 proliferation index is over 50% the overall survival is shortened ($p<0.01$). The Ki67 proliferation index is higher in cases with LVI ($p<0.01$). Tumor size was larger in cases with LVI ($p=0.05$).

In conclusion, in our study, we thought that MCT1 expression, vimentin expression, loss of SMAD4, and high Ki67 proliferation index in PDAC may be associated with poor prognosis in PDAC.

Keywords: Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, Epithelial Mesenchymal Transition, SMAD4, Ki67

GİRİŞ VE AMAÇ

PDAC, tüm yetişkin pankreas tümörlerinin yaklaşık %90'ını oluşturur ve 5 yıllık sağkalım oranı %8'dir. Tümör rezektabilitesi prognoz için en önemli belirleyicidir. Hastaların yalnızca %10-20 kadarı tanı anında rezektabl tümöre sahiptir. Rezeksiyon sonrası 5 yıllık sağkalım oranları %15-20'ye yükselmektedir (1).

En önemli prognostik faktör evredir ve güncel evreleme sistemine göre tümör boyutu bunun önemli bir göstergesidir. Diğer prognostik parametreler lenf nodu metastazı, tümörün histolojik derecesi, mitotik indeks, hücresel atipi, büyük damar invazyonu ve/veya venöz invazyon (Vİ), LVI, perinöral invazyon (PNI), rezeksiyon sınırında tümör bulunmasıdır (1).

PDAC'de kötü prognoza neden olan metastazın sık ve erken görülmesi ve geleneksel kemoterapi/radyoterapiye direnç gelişmesidir (2).

PanIN, PDAC'nin ana prekürsör lezyonudur. Düşük dereceli PanIN ve yüksek dereceli PanIN olarak sınıflandırılmaktadır (1).

EMT, embriyogenez sırasında epitel hücrelerinin bağlantı ve polarite kaybı göstererek mezoderm ve nöral krest gibi göç etme yeteneği olan mezenkimal hücrelere dönüşüm gerçekleştirdiği bir süreçtir (3). Yetişkinlerde ise EMT; yara iyileşmesi, doku fibrozisi ve kanser ilerlemesi dahil olmak üzere patofizyolojik süreçlerde çok önemli roller oynar (4, 5). E-cadherin kaybı ve vimentin gibi mezenkimal belirteçlerin ekspresyonu ile birlikte EMT, invaziv tümör büyümesi ve çeşitli solid tümörlerde metastatik yayılım ile ilişkilendirilmiştir (2). Birçok fare çalışması ve hücre kültürü deneyi, karsinom hücrelerinin mezenkimal fenotip kazanabildiğini ve düz kas aktin, vimentin ve desmin gibi mezenkimal belirteçleri eksprese edebildiğini göstermiştir (5).

TME kavramı, kanser hücrelerini çevreleyen ve tümör oluşumu süreçleri üzerinde büyük bir etkiye sahip olan stromal bileşenleri kapsar (6). TME; fibroblastlar, endotelial hücreler, perisitler, makrofajlar, lenfositler ve diğer bağışıklık hücreleri gibi hücrelerin yanı sıra ECM ve ilişkili çözünür faktörleri kapsayan aselüler komponentten oluşur ve bunlar kanserin tipine, evresine ve yerine göre farklılık

gösterebilir (7). Normal fibroblastların tümör hücresi ile indüklenen CAF'a dönüşümü sırayla, normal doku arşitektürün bozulmasıyla birlikte bir dizi tümör öncülü sinyali tetikler, böylece kanser hücrelerinin büyümesi için optimal ortamı oluşturur (8). CAF'lerin tanımlanması tipik olarak, onları vücutta bulunan daha büyük fibroblast havuzundan ayıran fibroblast aktivasyon proteini (FAP) ve düz kas aktin gibi çeşitli "CAF belirteçlerinin" ekspresyonu sonucunda gerçekleşir (9). Düz kas aktin, CAF'lar için bir belirteç olma rolüne ek olarak prognostik faktör olarak da tanımlanmıştır (10).

TAM'lar de TME'nin önemli bileşenlerinden biridir. TAM'lar PDAC başlangıcı, ilerlemesi ve metastazında kilit rol oynar. CD10 ekspresyonu, PDAC'de monosit/makrofaj infiltrasyonu ile ilişkilidir (11). Birçok immünohistokimyasal çalışma, stromal CD10 ekspresyonunun malignitelerde prognostik bir belirteç olduğunu ve tümör agresifliğiyle ilişkili olduğunu göstermiştir (12-14). CD10 ekspresyonunun PDAC prognozu üzerinde de etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (11).

Transforming growth faktör (TGF) hücre dışı matriks içinde bulunan ve makrofajlar, lenfositler, fibroblastlar, epitel hücreleri ve trombositler tarafından sentezlenen bir sitokindir (15). TGF hücre döngüsünün ilerlemesini bloke ederek doku homeostazını korur ve tümör oluşumunu baskılar. Bir TGF sinyal aracı olan SMAD4'ün inaktivasyonu ile tümör baskılayıcı fonksiyon sıklıkla PDAC'de kaybolur (16). SMAD4 inaktivasyonu hem PanIN oluşumundan hem de fibrozisten sorumlu bulunmuştur. SMAD4 inaktivasyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (17).

Çeşitli hipotezler tümör hücrelerinin biyosentetik bir kaynak olarak laktat kullandığını ve laktatın tümör invazyonunu, metastazı, anjiyogenezi, antioksidan aktiviteyi ve tedavi direncini desteklediğini ve antitümör bağışıklığını baskıladığını ortaya koymaktadır (18, 19). MCT'ler, hücre membranında laktat geçişini sağlayan membran proteinlerindedir (20). İnsan PDAC hücreleri, belirgin MCT1 ve MCT4 ekspresyonu ve kısmen MCT1 ve MCT4'e bağlı laktat geçişi sağlar. PDAC'de hücre göçünün kısmen MCT4'e bağlı olduğu ve invazyonun ise MCT1 ve MCT4'e birlikte bağlı olduğunu düşündüren çalışmalar mevcuttur (21). Tümör hücrelerinin MCT1 ekspresyonu uzamış genel sağkalım, progresyonsuz sağkalım ve azalmış lenf nodu

metastazı ile ilişkili bulunmuştur. Tersine, CAF'ların MCT4 ekspresyonu, kısaltılmış sağkalım ile ilişkilidir (22).

Ki-67'nin tümör dokusunda ekspresyonu, tümör proliferasyonu ile ilişki gösteren iyi bilinen bir belirteçtir. Meme ve prostat kanserleri dahil olmak üzere birçok tümörün ilerlemesi, metastaz riski, prognozu ile ilişkilidir ve ileride tedavi amacıyla yararlı olabilir (23).

Literatürde PDAC olgularında vimentin, CD10, Düz kas aktin, MCT1, MCT4, SMAD4 ve Ki67 ekspresyonlarının immünohistokimyasal yöntemlerle eş zamanlı araştırıldığı, bu antikörlerin birbiri ile ilişkisinin ve ekspresyonlarının PDAC'de prognostik önemine yönelik çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın literatüre katkısı, PDAC'de; şimdiye kadar panel olarak araştırılmamış olan vimentin, CD10, Düz kas aktin, MCT1, MCT4, SMAD4 ve Ki67 ekspresyonlarının birbirleri ile ilişkisini ve ekspresyonlarını değerlendirmek ve klinik sağkalım üzerine etkilerini araştırarak yeni tedavi seçeneklerine alternatif oluşturmaktır. Ayrıca tümör komşuluğunda PanIN varlığına göre tümör patogenezi tartışılmıştır.

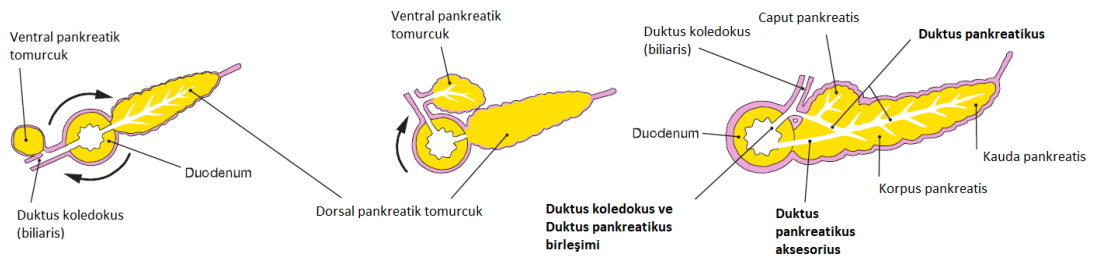
GENEL BİLGİLER

PANKREAS HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Embriyoloji

Pankreas gelişimi, gestasyonun ikinci ve üçüncü haftalarında (embriyo boyutu 3-4 mm olduğunda) duodenumdan ayrılan dorsal ve ventral iki tomurcuk olarak başlar (Şekil 1) (24). Dorsal tomurcuk hepatik divertikülün karşısında gelişirken ventral tomurcuk hepatik divertiküle bitişiktir (25). Altıncı, yedinci haftalarda ventral pankreatik tomurcuk, duodenum rotasyonu ile eş zamanlı olarak dorsal yönde kıvrılarak dorsal pankreatik tomurcuk ve sekretuvar duktalar ile birleşir (25, 26) (Şekil 1). Ana pankreas kanalının (Wirsung'un) distal üçte ikisi embriyonik dorsal kanaldan gelişirken, proksimal üçüncü kısım ventral kanaldan gelişir. Dorsal embriyonik kanalın kalan proksimal kısmı Santorini'nin aksesuar kanalı olur (25, 27). Ampulla vateri 8. haftada gelişir. Pankreasın normal hücresel gelişimi için üç temel olay gereklidir. Birincisi foregut endoderminin, multipotent progenitör hücrelerden oluşan dorsal ve ventral pankreas tomurcuklarını oluşturmasıdır. İkincisi, tomurcuklardaki hücrelerin nöroendokrin ya da ekzokrin hücre dönüşümleridir. Üçüncüsü, pankreas morfogenezinin son hali ile sonuçlanan geniş büyüme ve dallanmasıdır. Karmaşık gen düzenleyici ağlar ve epigenetik faktörler bu olayları kontrol eder (25).

İslet hücreleri 8-10. haftalarda duktuslardan gelişir, duktal epitelden çevre mezenşime doğru ayrılır ve daha sonra kümeler oluşur. Önce insülin eksprese eden hücreler ortaya çıkar ve birkaç hafta içinde glukagon, somatostatin ve pankreatik polipeptidleri eksprese eden diğer hücreler ortaya çıkar. Adacıkların matürasyonu geç gebelik ve erken postnatal dönemde meydana gelir (25).



Şekil 1: Pankreas gelişim evreleri (5.-8. Haftalar) (26)

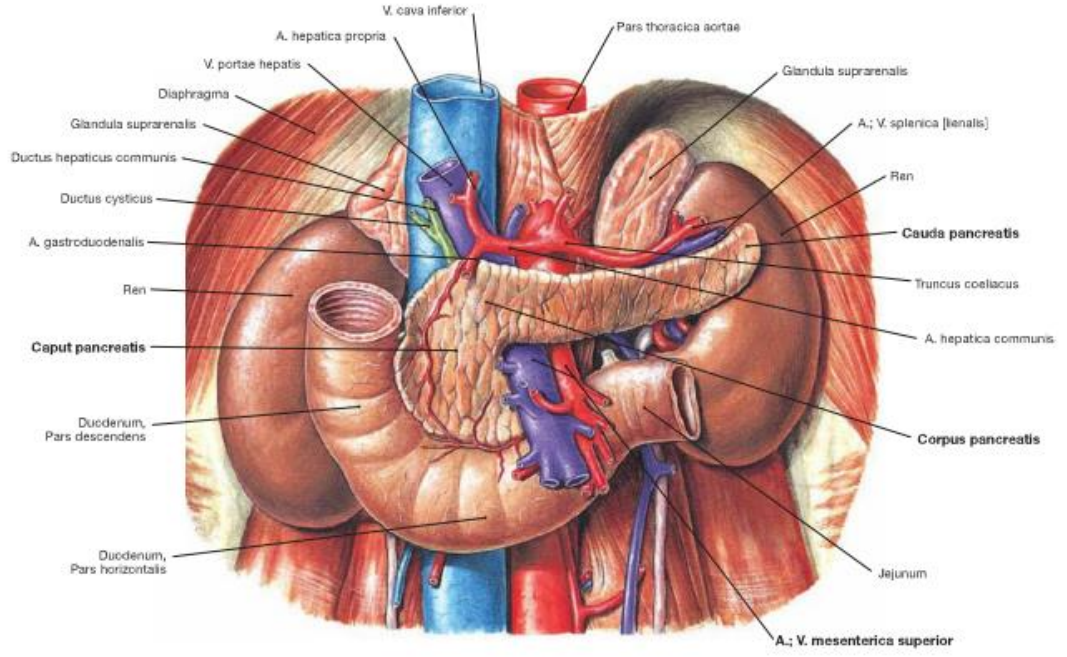
Anatomi

Pankreas L1-L2 lomber vertebralar hizasında yerleşmiş pembemsi sarı renkli, 18-20 cm uzunluğunda, yaklaşık 100 gram ağırlığında yardımcı bir sindirim bezidir (27).

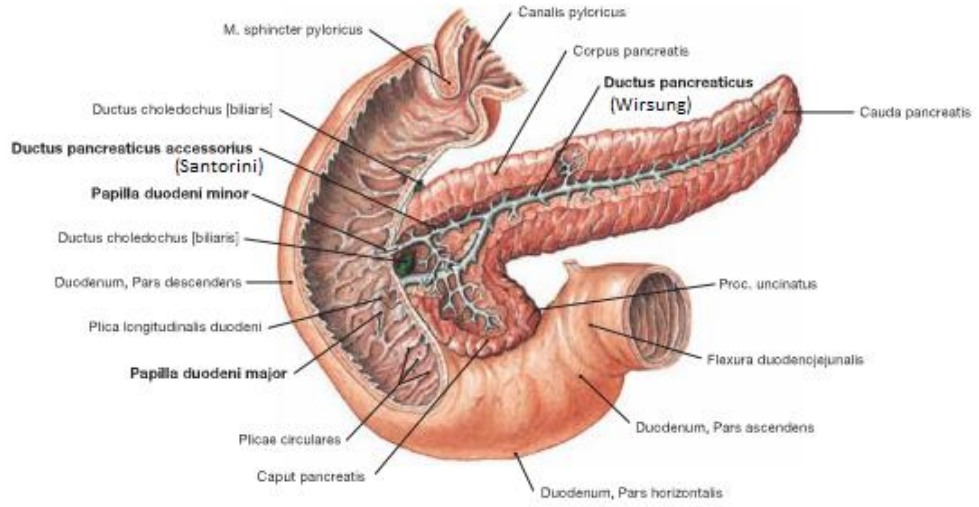
Pankreas posterior abdominal duvarda, sağda duodenumdan solda dalağa kadar uzanır. Baş, unsinat proçes, boyun, gövde ve kuyruk kısımlarından oluşur. Kuyruk bölgesindeki küçük bir alan dışında sekonder retroperitoneal yerleşimlidir (28). Baş kısmı inen duodenum kısmında yer almaktadır ve dorsalinde unsinat proçes izlenir. Sola doğru ise sırasıyla boyun, gövde ve kuyruğu uzanmaktadır (26) (Şekil 2).

Ana pankreatik dukt (Wirsung) kuyruk kısmından başlayarak gövdeden geçer ve baş kısmına ulaştığında inferiora doğru döner. Baş kısmının alt kısmında pankreatik dukt, biliyer duktusa katılır. Bu iki yapının birleşmesi ampulla Vateri'yi oluşturur, bu da duodenumun inen kısmının ikinci bölgesine majör duodenal papilla aracılığıyla açılır. Ampullanın etrafında ise oddi sfinkteri bulunur. Aksesuar pankreatik duktus (Santorini), majör duodenal papillanın hemen üstünde bulunan minör duodenal papilla aracılığıyla duodenuma açılır (28) (Şekil 3).

Pankreas baş bölgesi ile gövde ve kuyruk bölgeleri iki ayrı arteriyel sistem ile kanlanır. Baş kısmı, yukarıda gastroduodenal arterden çıkan dallar olan superior anterior-posterior pankreatikoduodenal arterler ile aşağıda superior mezenterik arterin dalı olan pankreatikoduodenal arterler ile beslenir. Gövde ve kuyruk kısmı ise splenik arterden çıkan dallardan beslenir. Splenik arterden çıkan bu dallar pankreasın arkasında pankreatik dorsal arteri ve bezin inferior sınırında ise pankreatik inferior arteri oluşturur. Pankreasın venleri ise superior mezenterik ven aracılığıyla splenik vene, oradan da hepatik portal vene drene olur (26).



Şekil 2: Pankreas yerleşimi ve komşulukları (26)



Şekil 3: Pankreas ana ve aksesuar duktusları (26)

Histoloji

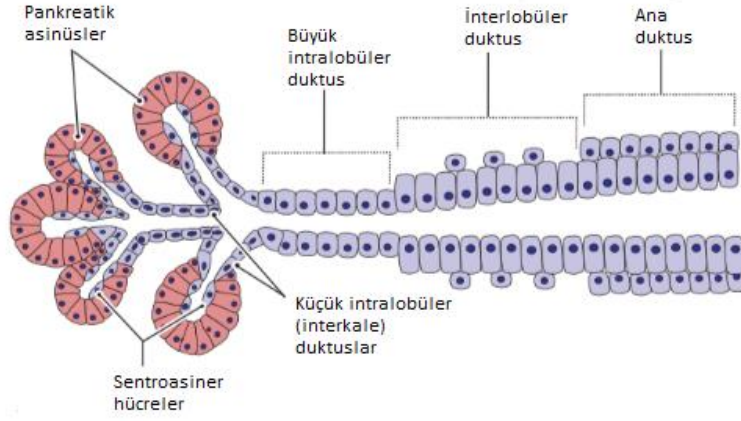
Diğer parenkimal bezlerde olduğu gibi pankreas etrafında da ince bir konnektif doku kapsülü mevcuttur ve bu kapsül bezin içine doğru septalar verir. Bu septalar bezi lobüllere ayırır. Pankreasın hem endokrin hem de egzokrin bölümleri bulunur. Egzokrin kısım bezin ağırlığının %99'unu oluşturur ve sekreteruar asinüsler ile ilişkili duktusları kapsar. Asiner hücreler günde yaklaşık 1,5 litre kadar sindirim enzimleri içeren pankreatik sıvıyı üretir. Pankreasın endokrin bölümü ise Langerhans adalarından oluşur ve karbonhidrat mekanizmasını etkileyen çok sayıda hormon üretir (27).

Duktal sistemin ilk kısmı asinüs merkezine uzanım gösteren küçük, soluk sentroasiner hücrelerden oluşur. Bu hücreler, kısa tek katlı kübik epitel ile döşeli küçük interlobüle interkale duktuslara uzanır. İnterkale duktuslar lobül dışında, daha büyük olan ve tek katlı kübik epitel, kısa kolumnar epitel ile döşeli olan interlobüler duktuslara uzanır. İnterlobüler duktus dalları birleşerek etrafında konnektif doku tabakası bulunan tek sıralı kolumnar epitel ile döşeli iki ana sekreteruar duktusa (Wirsung ve Santorini) açılır (Şekil 4) (27, 29) .

Egzokrin pankreas, bileşik bir tübüloasiner bezdir. Oval-yassı görünümdeki her asinüs santral lümen etrafında tek katlı kübik-piramidal hücrelerle döşelidir. Bazofilik görünümdeki hücrelerin sferoid nukleusları bazalde yerleşmiştir. Hücrelerin apikallerinde sekreteruar (zimojen) granüller mevcuttur. Asiner hücreler tripsin, kimotripsin, amilaz, lipaz ve karboksipeptidaz üretir. Asiner lümene parsiyel olarak protrude olan sentroasiner hücreler, interkale duktus hücreleri gibi bikarbonattan zengin sıvı üretir (27).

Pankreasın endokrin komponenti erişkinlerde tüm pankreas hacminin %1-2'si iken yeni doğanlarda bu oran %10'dur. Nöroendokrin hücrelerin çoğu Langerhans adalarında bulunur. Bu adalar tüm pankreasta mevcuttur ancak kuyruk kısmında yoğunluğu daha fazladır. İki çeşit ada mevcuttur. İlki en sık görülen %90 oranında keskin sınırlı adalar şeklinde izlenen kompakt adalardır. İkincisi ise bezin baş kısmının posterolateralinde izlenen diffüz adalardır. Kompakt adalar yuvarlak-oval görünümde, amfofilik sitoplazmalı, benekli kromatin paterni gösteren yuvarlak nöroendokrin hücre toplulukları şeklindedir. Diffüz adalarda ise asinüsler tarafından ayrılmış hafif

bazofilik sitoplazmalı nöroendokrin hücre trabeküllerinden oluşan hücrelerdir. Adalarda %60-70 oranında beta hücreleri, %15-20 oranında alfa hücreleri, %5-10 oranında delta hücreleri ve yaklaşık %1 oranında epsilon hücreleri bulunur. Beta hücreleri insülin, alfa hücreleri glukagon, delta hücreleri somatostatin ve epsilon hücreleri ghrelin salınımı yapar (25).



Şekil 4: Egzokrin pankreatik duktus sistemi (29)

PANKREAS TÜMÖRLERİ SINIFLANDIRILMASI

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2019 yılı pankreas tümörleri sınıflamasına göre (1)

Tablo 1: WHO 2019 Pankreas Tümörleri Sınıflaması

<i>Benign Epitelyal Tümörler ve prekürsörler</i>
Seröz Kistadenom <ul style="list-style-type: none">-Makrokistik (oligokistik) seröz kistadenom-Solid Seröz Adenom-Von Hippel-Lindau sendromu ilişkili seröz kistik neoplazm-Miks seröz-nöroendokrin neoplazm
Seröz Kisatadenokarsinom
Glandüler intraepitelyal neoplazi, düşük dereceli
Glandüler intraepitelyal neoplazi, yüksek dereceli
Düşük dereceli displazi gösteren intraduktal papiller müsinöz neoplazm
Yüksek dereceli displazi gösteren intraduktal papiller müsinöz neoplazm
İntraduktal papiller müsinöz neoplazm, NOS
İnvaziv karsinom ile ilişkili intraduktal onkositik papiller neoplazm
İntraduktal tübülopapiller neoplazm
İnvaziv karsinom ile ilişkili intraduktal papiller neoplazm
Müsinöz kistik neoplazm, düşük dereceli displazili
Müsinöz kistik neoplazm, yüksek dereceli displazili
Müsinöz kistik neoplazm, invaziv karsinom ile ilişkili
<i>Malign Epitelyal Tümörler</i>
Duktal adenokarsinom, NOS <ul style="list-style-type: none">-Kolloid Karsinom-Az kohesiv karsinom-Taşlı yüzük hücreli karsinom-Medüller Karsinom, NOS-Adenoskuamöz karsinom-Hepatoid Karsinom-Rabdoid fenotipi büyü hücreli karsinom-Andiferansiye karsinom, NOS-Osteoklast benzeri dev hücreler içeren andiferansiye karsinom
Asiner hücreli karsinom <ul style="list-style-type: none">-Asiner hücreli kistadenosarkom-Mikst asiner- nöroendokrin karsinom-Mikst asiner-nöroendokrin-duktal karsinom
Pankreatoblastom

Pankreasın solid psödopapiller neoplazmı -Yüksek dereceli karsinom ile beraber solid papiller neoplazm
Pankreatik Nöroendokrin Neoplazmlar
Pankreatik nöroendokrin mikroadenoma
Nöroendokrin tümör NOS -Nöroendokrin tümör, grade 1 -Nöroendokrin tümör, grade 2 -Nöroendokrin tümör, grade 3
Pankreatik nöroendokrin tümör, non fonksiyone -Onkositik nöroendokrin tümör, non fonksiyone pankreatik -Pleomorfik nöroendokrin tümör, non fonksiyone pankreatik -Berrak hücreli nöroendokrin tümör, non fonksiyone pankreatik
Fonksiyone pankreatik nöroendokrin tümörler
İnsülinoma
Gastrinoma
VIPoma
Glukagonoma
Somatostatoma
ACTH üreten tümör -Entrokromatofin hücreli karsinoid
Serotonin üreten tümör
Nöroendokrin karsinoma NOS -Büyük hücreli nöroendokrin karsinoma -Küçük hücreli nöroendokrin karsinom -Mikst nöroendokrin- non nöroendokrin neoplazm(MiNEN) -Mikst asiner-endokrin karsinom -Mikst asiner- nöroendokrin karsinom -Mikst asiner-endokrin-duktal karsinom

PANKREAS TNM SINIFLAMASI

AJCC (American Joint Committee of Cancer) 8. Baskıya göre (30)

Tablo 2: AJCC 8. baskıya göre pankreas tümörü TNM sınıflaması

T Sınıflaması ve kriterleri	
Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Primer tümör bulgusu yok
Tis	Karsinoma in situ (yüksek dereceli PanIN, yüksek derecede displazili IPMN, yüksek derecede displazili ITPN, yüksek derecede displazili MCN)
T1	Tümör boyutu ≤ 2 cm
T1a	Tümör boyutu $\leq 0,5$ cm
T1b	Tümör boyutu $>0,5$ cm ve <1 cm arasında
T1c	Tümör boyutu 1-2 cm arasında
T2	Tümör boyutu >2 cm ve ≤ 4 cm arasında
T3	Tümör boyutu >4 cm
T4	Tümör, boyutuna bakılmaksızın cölyak aksı, superior mezenterik arter ve/veya ana hepatik arter invazyonunu içerir
N Sınıflaması ve Kriterleri	
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu tutulumu yok
N1	Bir ila üç bölgesel lenf nodunda metastaz
N2	Dört veya daha fazla bölgesel lenf nodunda metastaz
M Sınıflama ve Kriterleri	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

Tablo 3: AJCC 8. baskıya göre prognostik evre grupları

Tis	N0	M0	0
T1	N0	M0	IA
T1	N1	M0	IIB
T1	N2	M0	III
T2	N0	M0	IB
T2	N1	M0	IIB
T2	N2	M0	III
T3	N0	M0	IIA
T3	N1	M0	IIB
T3	N2	M0	III
T4	Herhangi N	M0	III
Herhangi T	Herhangi N	M1	IV

PDAC HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Epidemiyoloji:

PDAC egzokrin pankreastan kaynaklanır ve tüm pankreas kanserlerinin yaklaşık %90'ını PDAC veya ilişkili subtipleri oluşturur (31). Bu nedenle pankreas kanserinden bahsedildiğinde çoğu kaynakta kastedilen bu tümör ve varyantlarıdır (1).

Pankreas kanseri, kötü prognozu nedeniyle neredeyse vaka sayısı (496.000) kadar ölüme (466.000) neden olur ve her iki cinsiyette de kansere bağlı yedinci en sık ölüm nedenidir (32). Pankreas kanserinin 2025 yılına kadar kanser ölümlerinin üçüncü önde gelen nedeni olan meme kanserini geride bırakacağı tahmin edilmektedir (33). Amerika Birleşik Devletleri'nde kansere bağlı ölümlerin 4. en sık nedeni pankreas kanseri iken 2030 yılında 2. en sık nedeni haline geleceği düşünülmektedir (34). Tüm evreler bir arada değerlendirilerek bakıldığında pankreas kanseri %10 oran ile en düşük sağkalım gösteren kanserdir (35). Hastaların çoğu 55-85 yaş aralığında tanı alır (Amerika'da medyan yaş: 70). Tüm dünyada Erkek/Kadın oranı 1,1:1'dir (1).

Etiyoloji:

Etiyolojisinde en iyi bilinen risk faktörü sigaradır. Sigara içenlerde risk, içmeyenlere göre 2-3 kat daha fazladır (36). Obezite, düşük fiziksel aktivite, yüksek oranda satüre yağ tüketimi ve az miktarda sebze tüketimi gibi faktörlerin PDAC gelişiminde risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (37-41). Alkol kullanımı ile pozitif korelasyon bazı çalışmalarda raporlanmıştır ve güncel bulgular yoğun alkol kullanımının PDAC gelişiminde zayıf bir etkisi olabileceğini göstermektedir (42, 43). PDAC, diabetes mellutis ve kronik pankreatit ile ilişkilidir (44, 45). Kan grubu O olan bireylerin, A veya B kan grubu olanlardan daha düşük PDAC riski taşıdığı saptanmıştır (46).

Lokalizasyon ve Makroskopik Özellikler:

PDAC vakalarının 2/3'ü baş kısmında, kalan 1/3'ü gövde veya kuyruk kısımlarında gelişir. Makroskopik incelemede ortalama 2,5-3,5 cm boyutlarında, kötü sınırlı, skirröz, açık renkli ve sert kitle şeklindedir. Genellikle tek odaklıdır ancak az sayıda hastada birden fazla odak izlenebilir. Bu durum multisentrik odak yanı sıra

duktus ya da asinüslerin intraglandüler kanserizasyonundan kaynaklanabilmektedir (47).

Histopatoloji:

Çoğu PDAC, iyi-orta derecede diferansiyedir ve pankreas parankimini infiltre eden, güçlü bir desmoplastik stromal yanıt oluşturan duktus benzeri glandüler yapılardan oluşur (48). Hücre ve nukleuslar normal duktuslarda izlenenden çok daha büyüktür ve nukleus/sitoplazma oranı yüksektir. Belirgin nukleol, pleomorfizm ve mitoz izlenir. Hücrelerin polariteleri bozulmuştur, epitelyal yapıların çevresinde belirli bir bazal membran bulunmaz ve stromada izole atipik neoplastik hücreler görülür. Küçük damar ve sinir invazyonu hemen hemen her zaman tanı anında bulunabilir. İntrapankreatik sinir invazyonu sıktır ve pankreas dışı sinir yayılımı daha kısa postoperatif sağkalım ile ilişkilidir. Tek tek karsinom hücrelerinin sitoplazmalarında büyük mukus damlacıkları görülebilir ve stromada mukus havuzları oluşabilir. Tümöre komşu pankreas parankiminde sıklıkla PanIN, atrofi (kanal obstrüksiyonu veya tümör tarafından doğrudan kompresyonun bir sonucu olarak), adacıkların veya nöroendokrin hücrelerin sayısında “göreceli” bir artış (adacık agregasyonu) görülür (47).

PDAC için gradeleme sistemi histolojik diferansiyasyon; müsin üretimi, mitoz ve nukleer pleomorfizme göre belirlenir. Aynı tümör içerisinde birden çok varyasyon görülmesi sıktır ve izlenen en yüksek grade raporlanır. Histolojik grade prognostik olarak önemlidir. Grade 3 kötü prognoz ile ilişkilidir (30). Az diferansiye karsinomlar, solid büyüme alanları ve yaygın mitozlarla birlikte sıklıkla daha belirgin nukleer pleomorfizm ve daha az glandüler diferansiyasyon gösterir. İyi diferansiye tümörlerde mikroskopik tanı son derece zor olabilir ve sitolojik ayrıntılara çok dikkat edilmelidir. Küçük büyütmede, glandlar genellikle iyi biçimlidir, geniş bir lümene sahiptir ve bir veya birkaç sıra silindirik veya küboidal epitel tabakası ile kaplanmıştır. Genel olarak küçük büyütmede, glandların yapısal özellikleri çevre desmoplastik stroma özelliklerinden bağımsız değerlendirilirse karsinom düşündürmeyebilir. Döşeyici epitelin büyük büyütmede incelenmesinde ise belirgin nukleer pleomorfizm, nukleer boyutlarda varyasyon, polarite kaybı, belirgin nukleoller ve mitotik aktivite izlenir. Yüksek dereceli sitolojik atipi ile düşük dereceli arşitektürel atipi arasındaki bu

eşitsizlik, pankreatikobiliyer bölge tümörleri için tipiktir (49). Küçük biyopsi örneklerinde tanı koydurucu kriterler arasında normal lobüler arşitektür dışında bulunan glandlar; kas içi artere hemen bitişik glandların varlığı ve bez lümenleri içindeki nekrotik kalıntılar görülmesi sayılabilir (50).

Pankreas Duktal Adenokarsinomu Histolojik Subtipleri:

PDAC subtipleri adenoskuamöz karsinom, skuamöz hücreli karsinom, kolloid karsinom, hepatoid karsinom, medüller karsinom, invaziv mikropapiller karsinom, taşlı yüzük hücreli (az kohesiv) karsinom, andiferansiye karsinom ve osteoklast benzeri dev hücreli andiferansiye karsinomdur (1).

Ayrıca PDAC’de henüz histolojik subtipler arasında kabul edilmeyen morfolojik olarak farklı modeller de vardır. Bu modellerin klinik özellikleri, prognostik önemi ve biyolojik davranışları açık değildir (1). Bu morfolojik modellerden en önemlisi, 0,5 mm’den büyük ve aldatıcı şekilde uniform dukt yapısında görünebilen neoplastik duktuslar ile karakterize büyük duktus paternidir (51). Dikkate değer diğer bir model ise köpüksü gland paternidir. Bu modelde neoplastik hücreler mikroveziküler sitoplazma ve gastrik foveolar epiteli andıran bazal yerleşimli hiperkromatik nükleuslar ile neoplastik hücrelerin luminal tarafında brush border benzeri bir apikal yoğunlaşma bölgesine sahiptir. Bu hücreler, özellikle frozen kesitlerde veya küçük biyopsilerde aldatıcı bir şekilde sakın görünmektedir (52). Ayrıca metastatik renal hücreli karsinomu taklit eden berrak hücreli bir alt tip de bildirilmiştir (53). Bunların haricinde izlenebilen asiner diferansiyasyon, neoplastik hücreler tarafından pankreas ekzokrin enzimlerinin üretimi ile tanımlanır. Tripsin, kimotripsin, lipaz ve BCL10 ile immünohistokimyasal olarak gösterilebilir (1).

İmmünohistokimyasal Panel:

PDAC’lerin çoğu hücre yüzeyi ile ilişkili müsinler olan MUC1(EMA), MUC3, MUC4 ve MUC5AC eksprese eder. İmmünohistokimyasal olarak MUC1, konvansiyonel invaziv duktal karsinomların %80'inden fazlasında eksprese edilir ve yüksek dereceli PanIN’lerde de benzer oranlarda boyama izlenir. Eksprese edilen sitokeratinler (CK) normal duktus epitelinde olduğu gibi CK7, CK8, CK18 ve CK19’dur. Bunlara ek olarak CK20, CK17 ve bazen de CK5/6 eksprese edilir. CK20,

PDAC'de ampuller adenokarsinomda olduğundan daha az sıklıkla eksprese edilir. Ancak bu fark tanıya yardımcı olacak kadar belirgin değildir. PDAC ayrıca sıklıkla EMA, CEA, CA125, Mezotelin, TAG72, DUPAN2, CA19-9 ve S100P eksprese eder (1, 49). PDAC'lerde genellikle, sinaptofizin veya kromogranin gibi nöroendokrin belirteçlerle immünoreaktif olan küçük bir neoplastik hücre popülasyonu da bulunabilir (49). SMAD4 (DPC4) ekspresyonu vakaların %55'inde ve p16(CDKN2A) nükleer ekspresyonu vakaların %75'inde kayıp gösterir. P53 ekspresyonu olguların %75-80'inde, nükleer aşırı ekspresyon veya ekspresyon göstermeyen (null model) şeklinde izlenir (1).

Genetik:

Pankreas kanseri hastalarının yaklaşık %10-12'sinde aile öyküsü vardır (54, 55). Germline mutasyonlar olan BRCA1, BRCA2, CDKN2A, PALB2, ATM mismatch onarım genleri ile PRSS1 ve SPINK2 gibi kalıtsal pankreatit genleri pankreas kanseri ile ilişkilidir (56).

Moleküler Patoloji:

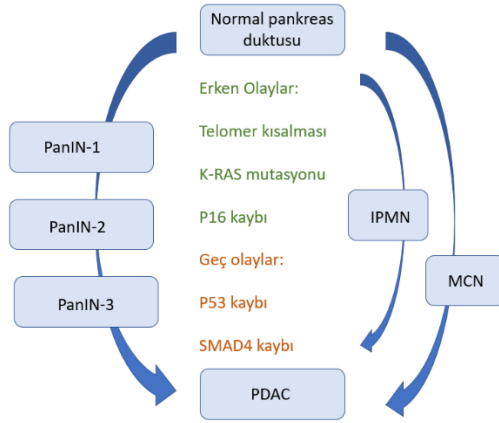
International Cancer Genome Consortium (ICGC) ve The Cancer Genome Atlas (TCGA) tarafından yapılan yeni nesil sekanslama yöntemiyle PDAC'nin moleküler yapısı ortaya konmuştur (57-59). Bu çalışmalar sonucu en sık görülen dört rekürren anomali KRAS onkogeninde mutasyon; TP53, SMAD4 ve CDKN2A(p16) tümör supresör genlerinde fonksiyon kaybı mutasyonları ve/veya delesyonlarıdır (1). Kodon 12, 13 veya 61 üzerinde bulunan onkogenik KRAS mutasyonları pankreas kanserlerinin %90'ından fazlasında izlenir. Bu da RAS sinyal yolunun aktivasyonu ile otonomik hücre büyümesi, hayatta kalması ile birlikte tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmasını sağlayan tümör mikro ortamının oluşmasına neden olur (60). Bu dört en sık görülen mutasyon dışında vakaların %15-20 kadarında, DNA onarım genleri ile ilgili olan BRCA2, PALB2, ATM, CHEK, RAD1 mutasyonları izlenir (61, 62).

Prekürsör Lezyonlar, PanIN ve Karsinogenez:

Yüksek dereceli PanIN, PDAC için ana prekürsör lezyondur (63). PanIN dışında intraduktal papiller müsinöz neoplaziler (IPMN) ve müsinöz kistik neoplaziler (MCN) de pankreas karsinomu prekürsörüdür (64). PanIN sınıflandırılması yakın zamanda eski üç kademeli derecelendirme şeması (PanIN-1, PanIN-2, PanIN-3) yerine iki kademeli derecelendirme sistemi ile değiştirilmiştir. Eski PanIN-1 ve PanIN-2 kategorilerine ait neoplaziler artık düşük dereceli PanIN ve eski PanIN-3 kategorisine ait olanlar ise yüksek dereceli PanIN olarak sınıflandırılmaktadır (65). Mikroskopik olarak PanIN lezyonları kübik- kolumnar epitel ile döşeli olup değişken oranda müsin üretirler. Düşük dereceli PanIN lezyonları düz ya da papiller görünümde, bazal yerleşimli psödostratifiye nukleuslu, hafif-orta derecede atipi gösteren hücrelerden oluşur. Mitoz nadirdir. Yüksek dereceli PanIN lezyonları ise tipik olarak mikropapiller veya papiller arşitektürlü, polarite kaybı gösteren, irregüler nukleer stratifikasyon ve lümeneye doğru uzanan hücre kümeleri gösteren, belirgin atipi ve mitoz içeren hücreler şeklindedir (66). PanIN immünohistokimyasal olarak PDAC ile paralel özellik gösterir. Lezyonların hiçbiri MUC2 eksprese etmez ancak çoğu EMA(MUC1), MUC4 ve MUC5AC eksprese eder (67). P53 aberran ekspresyonu nadirdir ve SMAD4 ile yüksek dereceli PanIN'lerde kayıp izlenmez (68).

PanIN'lerin moleküler analizleri sonucunda PDAC'de bulunan genetik değişikliklerin çoğunu barındırdığı gösterilmiştir. KRAS2 mutasyonu düşük dereceli PanIN lezyonlarında (PanIN-1) meydana gelirken, p16/CDKN2A genindeki inaktive edici mutasyonlar ara lezyonlarda (PanIN-2) ve SMAD4, TP53 ve BRCA2'deki inaktive edici mutasyonlar geç lezyonlarda ortaya çıkar (PanIN-3) (69). Telomer kısalması da PanIN-1 lezyonlarında meydana gelen erken bir olaydır ve telomer kısalması PanIN'lerde kromozomal anomalilerin birikmesine katkıda bulunabilir (70).

Şekil 5'te bilinen üç PDAC öncül lezyonu olan PanIN, MCN ve IPMN ile erken ve geç dönemlerde meydana gelen genetik değişiklikler izlenmektedir (71).



Şekil 5: Karsinogeneizde erken ve geç dönem genetik değişiklikler

Hezel A.F. ve ark. (71)

Tümör Mikroçevresi ve Laktat Metabolizması

PDAC hücre proliferasyonu, migrasyonu, invazyonu ve metastazı destekleyen otokrin ve parakrin sinyalleşme basamakları gösterir. Örneğin, TGF- α , insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF1), fibroblast büyüme faktörleri (FGF) ve hepatosit büyüme faktörü (HGF) gibi birçok sinyal molekülü ve bunların ilgili tirozin kinaz reseptörleri [örneğin epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), reseptör tirozin protein kinaz erbB-2 (HER2 olarak da bilinir), HER3, IGF1 reseptörü (IGF1R), FGF reseptörleri (FGFR) ve HGF reseptörü (HGFR)] PDAC hücrelerinin mitojenik olarak kendi kendine yeterliliğini artırır ve bununla birlikte migrasyon ile invazyon kolaylaşır (72).

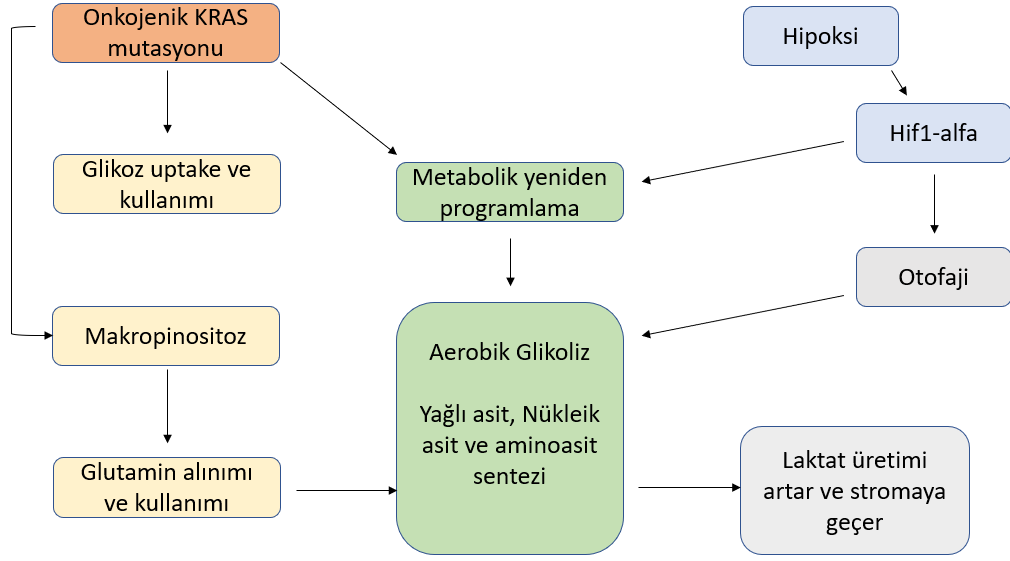
PDAC karakteristik olarak bol ve yoğun kollajenöz stromaya (desmoplazi) sahiptir ve bu durum hipoksik ortama yol açar. Desmoplastik stroma, ECM proteinlerinden (kollajenler, fibronektin ve laminin) ve ayrıca glikoproteinler, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar gibi proteinlerden oluşur. Stromadaki kanser hücrelerinin ECM ile etkileşimine aracılık eden diğer faktörler arasında büyüme faktörleri, osteopontin, periostin ve serin proteini yer alır. Stromanın hücresel elemanları, kollajen matriksi üreten pankreatik stellat hücreleri (aktive satellat hücreler literatürde CAF'lar olarak da adlandırılır), infiltrate immün hücreler, endotelial hücreler ve nöronal hücreleri içerir (73). TME'de bulunan normal fibroblastlar, doğrudan hücre-hücre teması, çözünür faktörlerle parakrin sinyalizasyon ve ECM bütünlüğü

yoluyla kanserleşme başlangıcı ve metastatik hücrelere karşı çeşitli supresör etki gösterebilir. Buna karşın normal fibroblastların tümör hücresi ile indüklenen CAF'lara dönüşümü, normal doku arşitektürün bozulmasıyla birlikte bir dizi tümör öncülü sinyali tetikler. Böylece tümör hücrelerinin yoğun bir şekilde büyümesi için optimal ortam oluşturur (8).

TAM'lar TME'nin önemli bir bileşeni olup PDAC başlangıcı, ilerlemesi ve metastazında kilit rol oynar. CD10 ekspresyonu, PDAC'de monosit/makrofaj infiltrasyonu ile ilişkili olarak gösterilmiştir ve PDAC prognozu üzerinde de etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (11). Stromal CD10 ekspresyonunun malignitelere prognostik bir belirteç olduğu ve tümör agresifliğiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (12-14).

Aberran metabolizmaya sahip tümör hücreleri, büyük miktarlarda oksijen ve besin tüketerek hipoksi, beslenme yetersizliği ve TME'de yüksek seviyelerde metabolik yan ürünler ile sonuçlanır (74). TME'deki bu artmış metabolitler (özellikle laktat) tümör hücresi büyümesini ve bağımsızlık kaçışını destekleyen bir ortamın kurulmasını kolaylaştırır (75). PDAC hücreleri, esas olarak hipoksi ile indüklenebilir transkripsiyon faktörü-1 α (HIF1 α) ve onkogenik KRAS mutasyonu aracılığıyla gerçekleşen çeşitli mekanizmalarla hayatta kalmaya adapte olmuştur (76). Warburg ve arkadaşları 1920'lerde, aerobik koşullar altında, tümör dokularının belirli bir süre içinde normal dokulara göre yaklaşık on kat daha fazla glikozu laktata metabolize ettiğini gösterdiler. Bu Warburg etkisi olarak bilinen bir fenomendir (77). Tümör hücreleri tarafından üretilen laktat, hücre içi asitleşmeyi önlemek için MCT'ler yoluyla hücre dışı boşluğa atılır. Bunun sonucunda TME'de laktat seviyelerinde artış meydana gelir ve kötü prognozla ilişkilidir (78, 79) (Şekil 6).

Laktogenezisin karsinogenezi destekleyebileceği adımlar tanımlanmıştır: (1) artan glikoz alımı; (2) artan glikolitik enzim ekspresyonu ve aktivitesi; (3) azalmış mitokondriyal fonksiyon; (4) artan laktat üretimi, birikimi ve salınımı ve (5) laktat değişimi için monokarboksilat taşıyıcılar MCT1 ve MCT4'ün up regülasyonudur. Otokrin, parakrin ve endokrin benzeri özelliklerinden dolayı laktat, karsinogeneizde özellikle anjiyogenez, immün kaçış ve hücre göçü ana yollarına katılır (80).



Şekil 6: Tümör mikroçevresi ve laktat metabolizması

Kleeff J. Ve ark. (76)

Epitelyal Mezenkimal Geçiş:

EMT, polarize bir epitel hücresinin, gelişmiş göç kapasitesine sahip mezenkimal hücre fenotipine dönüşmesine sebep olan biyolojik bir süreçtir (5). EMT ile, eksprese edilen adhezyon moleküllerindeki değişiklikler mezenkimal fenotipe kayma ile sonuçlanır. Bu da hücrelerin migrasyon ve invazyon yeteneği kazanmasını sağlar. Bu sürecin tersi olan mezenkimal-epitelyal geçişte (MET) ise tam tersi hücreler apiko-bazal polarizasyon gösterir ve epitelyal hücrelerde izlenen hücrelerarası bağlantı komplekslerini eksprese eder (81).

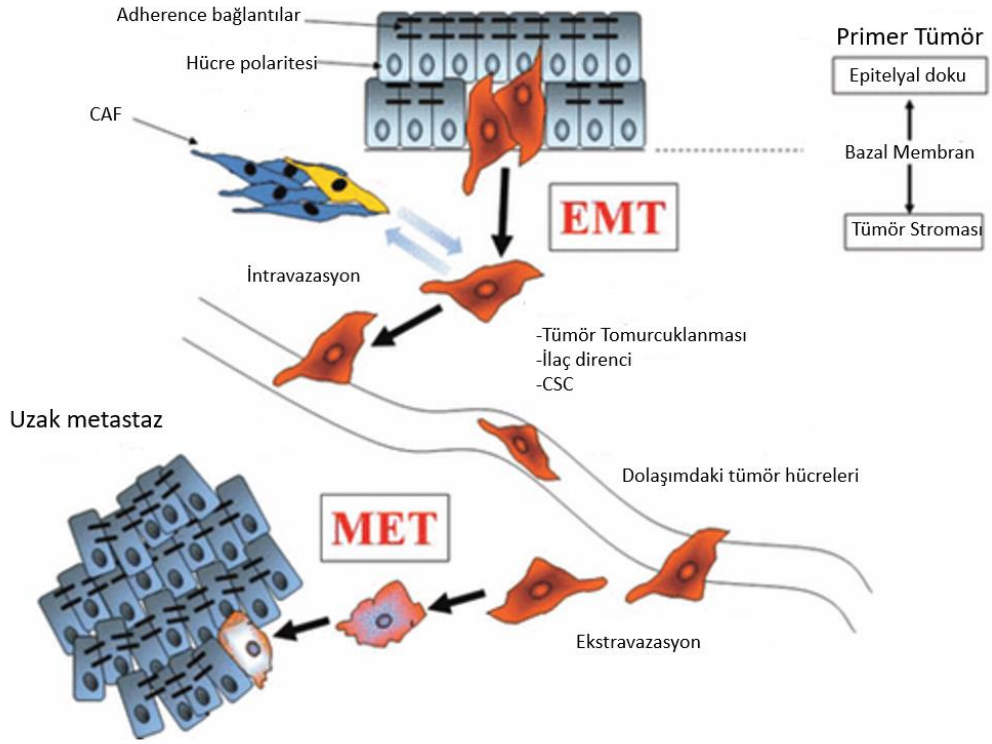
EMT üç genel alt tipte sınıflandırılmıştır: Tip 1 EMT, implantasyon ve embriyonik gastrulasyon ile ilişkilidir ve mezoderm, endoderm ile mobil nöral krest hücre gelişimini sağlar. Tip 2 EMT, inflamasyon ve fibrozis aşamalarında devreye girer. Yara iyileşmesi, doku rejenerasyonu ve fibrozis ile ilişkilidir. Tip 3 EMT, genetik ve epigenetik değişikliklere uğrayan epitelyal neoplastik hücrelerde meydana gelir. Artmış invazyon ve metastaz ile ilişkilidir (5). Karsinom hücreleri mezenkimal fenotip kazandıklarında düz kas aktin, vimentin ve desmin gibi mezenkimal

belirteçleri eksprese eder (82); E-kadherin gibi epitelyal belirteçlerin ekspresyonu ise kaybolur (83).

Kanser hücrelerinde EMT sürecinin aktivasyonu tümör mikro çevresinden kaynaklanan sinyallere bağlıdır ve hücre polaritesi, hücre-hücre teması, hücre iskeleti ile ilgili proteinlerin etkileşimi aracılığıyla gerçekleşir. Bu da epigenetik düzenleyicilerle etkileşime giren EMT-indükleyici transkripsiyon faktör (EMT-TF) ağı tarafından yönetilir (84). EMT-TF üyeleri içerisinde SNAI1 (önceden Snail olarak biliniyordu), SNAI2 (önceden Slug olarak biliniyordu), ZEB1, ZEB2 ve Twist başta olmak üzere Prrx1, Sox4 ve Sox9 yer alır (85). Tümörlerle ilişkili EMT; TGF- β , HGF ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi stromadan salgılanan çeşitli faktörler tarafından indüklenebilir. TGF- β ; embriyogenezis, kanser ilerlemesi ve fibroziste EMT'nin ana indükleyicisidir (84). TGF- β reseptörleri, SMAD protein ailesinin üyeleri olan SMAD2 ve SMAD3'ün fosforilasyonuna yol açar. Fosforilasyondan sonra, SMAD4'ün nükleer translokasyonu ile sonuçlanan bir sinyalleşme kaskadı aktive olur ve bu da çok çeşitli tümör teşvik edici faktör genlerinin transkripsiyonuna yol açar (86).

Kanser kök hücreleri (CSC), rejenerasyon ve diferansiye tümör hücrelerine dönüşebilme yeteneğine sahip bir hücre grubudur. Primer tümörde EMT'ye maruz kalan tümör hücreleri, parçalanmış bazal membranı aşarak ilaç direnci ve kanser kök hücresi özellikleri kazanır. Bunun sonucunda tümör stomasını invaze edip dolaşıma girerek uzak organlara taşınma gerçekleşir. Metastatik bölgelerde, soliter kanser hücreleri MET aracılığıyla yeni metastatik odağı oluşturur (87). Pankreas kanserinde de CSC tanımlanmıştır (88).

EMT'ye maruz kalan hücreler metastatik potansiyel kazanabilir, ancak bu hücreler tümör hücrelerinin toplam popülasyonunun yalnızca küçük bir bölümüdür. EMT geçirmiş hücrelerin metastatik bölgede MET geçirmesi beklenmektedir. Bu nedenle EMT/MET süreci konumsal ve zamansal heterojenite gösterir. Bu da patoloğların bu hücreleri tespit etmesini zorlaştırır (87) (Şekil 7).



Şekil 7: Tümörde EMT ve MET mekanizması

Iwaatuski, M. ve ark. (87)

BU ÇALIŞMADA KULLANILAN ANTİKORLAR HAKKINDA BİLGİLER

MCT1 ve MCT4

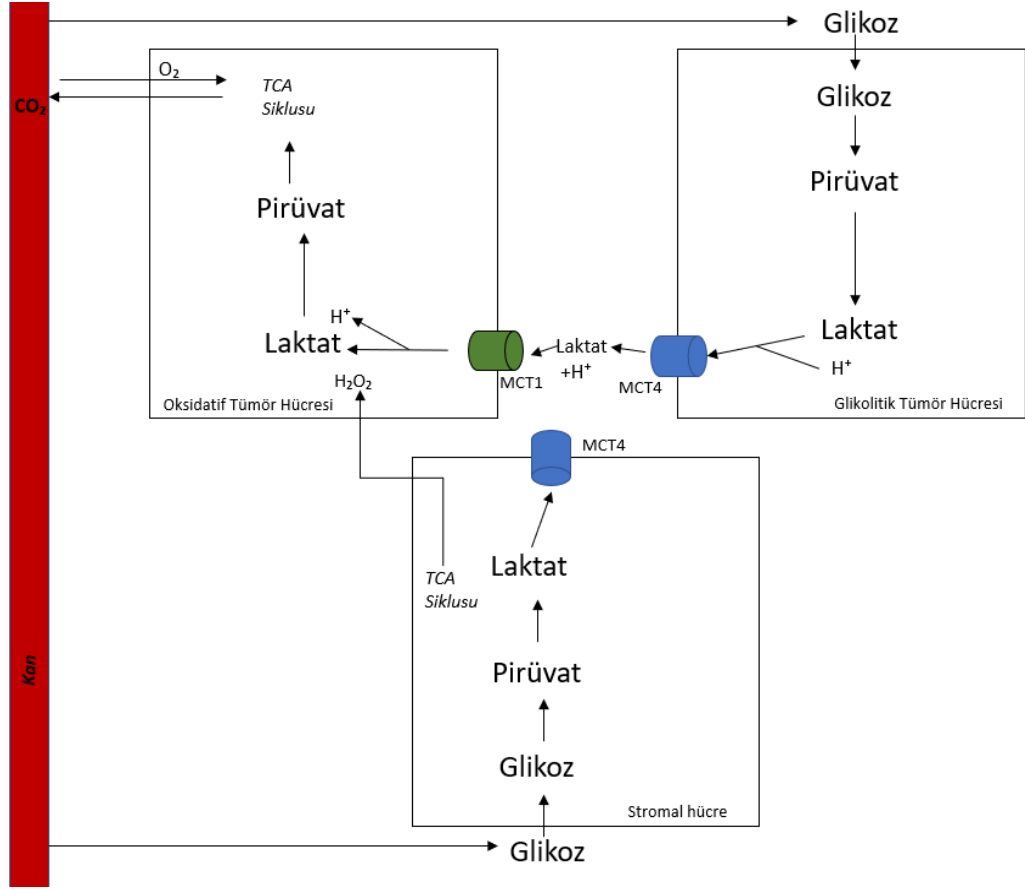
Tüm tümörlerde artmış glikoliz sonucunda artmış oranda laktat hücre dışı boşluğa salınır (89). Laktik asit hidrofilik ve zayıf bir asit olduğu için MCT ailesi ile taşınması gerçekleştirilir. MCT'ler, solute carrier 16 (SLC16) gen ailesi tarafından kodlanır. Ailenin 14 üyesi arasında, MCT1/ SLC16A1, MCT2/ SLC16A7, MCT3/ SLC16A8 ve MCT4/ SLC16A3 protonlarla birlikte monokarboksilat iyonlarını taşır (90). Bu pasif taşıyıcılar, esas olarak, substrat konsantrasyon gradyanına bağlı olarak çift yönlü olarak çalışabilecekleri plazma zarında lokalizedir (91). MCT'ler, normal dokulardaki farklı işlevleriyle ilgili farklı ekspresyon modellerine sahiptir (90). Özellikle, hiçbiri pankreastaki Langerhans adacıklarının β -

hücreleri tarafından eksprese edilmez, egzersiz sırasında hipoglisemi gelişmemesi için laktik asit kaynaklı ATP üretimini ve insülin salgılanmasını önler (91).

MCT1 vücutta çok yaygın olarak eksprese edilir. Bağırsak epitelinde hem apikal hem de bazolateral membranlarda, kalpte, mitokondriyal solunum için oksidatif yakıt olarak laktat kullanan kırmızı iskelet kasında, böbreğin proksimal tübülünde eksprese edilir. Ayrıca karaciğer parenkiminde, eritrositler, astrositler, oligodendrositler, hipoksik hücreler ve aktive T-lenfositler gibi bağışıklık hücreleri dahil olmak üzere laktik asit geçişini kolaylaştırır (92-95).

MCT'ler arasında laktat için en düşük afiniteye sahip olan MCT4, öncelikle beyaz iskelet kası lifleri, astrositler, bağışıklık hücreleri, kondrositler ve hipoksik hücreler dahil glikolitik hücrelerden laktik asit akışını kolaylaştırır (91, 96). Piruvat için çok düşük bir afiniteye ve laktat için daha yüksek bir afiniteye sahiptir, bu da piruvatın geçişten önce laktata dönüştürülmesini sağlar, böylece yüksek bir glikolitik akışı korumak için gerekli olan LDH-5 reaksiyonu ile NAD⁺ rejenerasyonunu destekler (97).

MCT1, MCT2 ve MCT4 ekspresyonu, kanser hücre hattı çalışmaları ve hastalardan alınan birçok tümör örneğinde karakterize edilmiştir. Normal epitelden tümör epiteline ilerleme sırasında MCT1, MCT2 ve MCT4'ün up regülasyonu tekrar tekrar gösterilmiştir. MCT1 ekspresyonunun beyin tümörü, serviks kanseri, melanomda; MCT4 ekspresyonunun ise adrenokortikal kanser, meme kanseri, serviks kanseri, kolorektal kanser, özefageal karsinom, hepatoselüler karsinom, melanom ve oral skuamöz hücreli karsinomlarda normal epitelden tümöre dönüşüm esnasında progrese olduğu raporlanmıştır (90). İnsan PDAC hücreleri belirgin MCT1 ve MCT4 ekspresyonu gösterirler ve kısmen MCT1 ve MCT4'e bağlı laktat akışı gösterirler. PDAC hücre göçü MCT4'e kısmen bağlıdır. Ayrıca MCT1 ve MCT4'e ise invazyon için kısmen bağlıdır. MCT1 ve MCT4'ün kısmi olarak inhibe edilmesi klinik olarak önemli olabilir (21).



Şekil 8: Kanserde laktat değişimine dayalı metabolik simbiyoz ve kommensalizm

Payen V.L. ve ark. (90)

SMAD4

SMAD4 (Sma (Caenorhabditis elegans) Mothers Against Decapentaplegia homolog 4) veya DPC4 (Deleted in Pancreatic Cancer, lokus 4), TGF- β 'nın temel hücre içi transkripsiyonel aracısı olarak işlev gören bir tümör baskılayıcı genidir (98). SMAD'lar, TGF- β 'ya yanıt olarak transmembran serin-treonin reseptör kinazlar tarafından fosforile edilen ve aktive edilen bir sinyal transdüksiyon proteinleri ailesidir. SMAD4 proteini, hücre nükleusunda biriken ve hedef genlerin transkripsiyonunu düzenleyen diğer aktive SMAD proteinleri ile homomerik ve heteromerik kompleksler oluşturur (99).

SMAD proteini DNA'ya bağlanarak hücre proliferasyonunu inhibe eden bir tümör baskılayıcı görevi görür ayrıca anjiyogenezi azaltarak ve kan damarı

hiperpermeabilitesini artırarak tümör proliferasyonunu potansiyel olarak inhibe eder (100).

SMAD4 proteini, nükleus ve sitoplazma arasında gidip gelir. SMAD4'ün nükleer girişi, TGF- β sinyalinden bağımsızdır ve spontan bir süreç olarak meydana gelir (101). SMAD4 immünohistokimyası genellikle sitoplazmiktir ve gen bozulmamışsa nükleer boyama da olabilir. SMAD4 geni mutasyona uğradığında ekspresyon kaybı meydana gelir. Ekspresyon kaybı, biyopsi materyalinde en çok PDAC'yi benign/reaktif pankreastan ayırırken yararlıdır, çünkü reaktif epitelyal değişikliklerde SMAD4 boyaması korunur (100).

SMAD4 kaybı ve KRAS inaktivasyonu, PDAC için en karakteristik moleküler olaylardır (101). Normal pankreas duktal epitel hücrelerinde, TGF- β ile indüklenen tümör baskılayıcı etkiler, diğer SMAD'lar tarafından düzenlenen genlerle uyum içinde meydana gelir (102). TGF- β 'nın artan ekspresyonu, tümör ilerlemesine uygun bir mikro-ortam yaratır (93). PDAC'lerin yaklaşık %30'unda SMAD4 homozigot olarak delesyona uğrar. Vakaların diğer %20'sinde, kromozom allel kaybı ile SMAD4 inaktive olur (103). Bunun sonucunda, SMAD4 geninde missense, nonsense veya çerçeve kayması mutasyonları gelişmesi ile SMAD4 proteininin hızlı bir şekilde bozulması meydana gelir (104). SMAD4 fonksiyonunun kaybı sonucunda SMAD4'e bağlı TGF- β yolu ortadan kalkar ve bu durum düzensiz hücresel proliferasyonla sonuçlanır (105). PanIN'lerde SMAD4 inaktivasyonu, geç lezyonların sadece yaklaşık %30'unda kaydedilmiştir (yüksek dereceli PanIN). Bu yoldan oluşan PDAC'lerde, yaklaşık %55-60 oranında SMAD4'ün mutasyonel inaktivasyonu izlenmiştir (106).

Bazı çalışmalarda SMAD4 ekspresyon kaybı göstermeyen hastaların, gösteren hastalarla kıyaslanmasında ekspresyon kaybı olmayan hastalarda belirgin bir şekilde prognoz daha iyi saptanmıştır. Ancak başka çalışmalarda ise hafif artmış sağkalım olmasına rağmen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (101). SMAD4 inaktivasyonunun kötü prognoz ile ilişkisi, inaktivasyonla birlikte PDAC'de artmış metastaz eğilimi nedeniyle olabilir (107).

Düz Kas Aktin

Düz kas aktinin dört farklı çeşidi vardır: ökaryotik hücrelerde iki vasküler düz kas aktin (α -SM ve γ -SM) ile iki sitoplazmik düz kas aktin (β -NM ve γ -NM düz kas aktinler). Alfa düz kas aktin, esas olarak vasküler düz kas hücrelerinin mikrofilament demetlerinde bulunur ve kontraktil işlevleri vardır. Arteriyel tonüs ve miyofibroblast aktivasyonu ile yakın bir ilişki gösterir (108).

Alfa düz kas aktin, fibrojenizde önemli bir rol oynayan bir düz kas aktin izoformudur. Alfa düz kas aktin; düz kas hücrelerinde, miyofibroblastlarda ve kan damarlarında bulunabilir (109, 110). Alfa düz kas aktin, fibroblastın miyofibroblastta diferansiyasyonu ile ilişkilidir. Miyofibroblastlar, fibroblastlardan farklı olarak kasılma yeteneğine sahiptir. Alfa düz kas aktin ekspresyonu ve hücre dışı matriks bileşenleri üretiminde önemli olan miyofibroblastın fenotipi, TGF-beta ile düzenlenir (111). Miyofibroblastın kasılma özellikleri, Alfa düz kas aktin ekspresyonu ile ilişkili olup inflamasyon, yara iyileşmesi, fibrozis ve karsinogenezde rol oynar (112).

TME'de bulunan normal fibroblastlar, doğrudan hücre-hücre teması, çözünür faktörlerle parakrin sinyalizasyon ve ECM bütünlüğü yoluyla kanserleşme başlangıcı ve metastatik hücrelere karşı çeşitli supresör etki gösterebilir. Buna karşın normal fibroblastların tümör hücresi ile indüklenen CAF'lara dönüşümü, normal doku arşitektürün bozulmasıyla birlikte bir dizi tümör öncülü sinyali tetikler. Böylece kanser hücrelerinin yoğun bir şekilde büyümesi için optimal ortam oluşur (8). CAF'ların tanımlanması tipik olarak, onları vücutta bulunan daha büyük fibroblast havuzundan ayıran FAP ve Düz kas aktin gibi çeşitli "CAF belirteçlerinin" ekspresyonuna dayanarak gerçekleştirilir (9). Düz kas aktin, CAF'lar için bir belirteç olma rolüne ek olarak, tümör için prognostik faktör olarak da tanımlanmıştır (10).

Mezenkimal hücrelere dönüşen karsinom hücreleri de Düz kas aktin eksprese eder (113). Düz kas aktin ekspresyonunun, omentumu invaze eden seröz borderline over tümörlerinde invaziv olmayanlara kıyasla daha yüksek olduğu kaydedilmiştir (114).

Vimentin

Protein ara filament ailesinin önemli bir bileşeni olan vimentin, normal mezenkimal hücrelerde her yerde eksprese edilir ve hücre sel bütünlüğü koruduğu ve mekanik strese karşı direnç sağladığı bilinmektedir. Prostat kanseri, gastrointestinal tümörler, santral sinir sistemi tümörleri, meme kanseri, melanom, akciğer kanseri ve diğer kanser türleri dahil olmak üzere çeşitli epitelyal kanserlerde artan Vimentin ekspresyonu rapor edilmiştir (115).

Vimentin, EMT belirtici olarak önem kazanmıştır (116). Vimentin, epitel hücrelerinin mezenkimal dönüşümünün özelliği olarak kabul edilir ve karsinomlarda EMT'nin en iyi göstergelerindendir (117). Vimentin ekspresyonu, metastaz ve invazivlik ile pozitif korelasyonludur (118). Ayrıca vimentin ekspresyonu neoadjuvan tedavi almış PDAC olgularında kısalmış hastaliksız sağkalım ve genel sağkalım için bağımsız bir prognostik faktör olarak bulunmuştur (119).

CD10

CD10, çeşitli peptitlerin fizyolojik etkisini düzenleyen, hücre zarına bağlı çinko bağımlı endopeptidaz ailesinin bir prototipi olarak kabul edilir (120). Kemik iliği lenfoid kök hücrelerinde, pro-B lenfoblastlarda ve matür nötrofillerde eksprese edilir, lösemi ve malign lenfomaların sınıflandırılması için kullanılır (121). CD10 normal dokulardan fetal karaciğer, kemik iliği, dalak ve beyinde eksprese edilir. Nöroblastom veya nefroblastom, melanom, akciğer, deri, pankreas, prostat, karaciğer, meme, mide, serviks ve mesane gibi birçok organın solid tümöründe eksprese edilir (122).

PDAC CAF'lar, TAM'lar ve ECM'yi içeren kapsamlı bir fibrotik yanıt ile karakterizedir (123). Genel olarak, TAM'lar PDAC'nin başlama, ilerleme ve metastazında kilit rol oynar. CD10 ekspresyonu, PDAC'de monosit/makrofaj infiltrasyonu ile ilişkilidir. Bir TAM alt kümesi tarafından eksprese edildiği gösterilmiştir. CD10 ekspresyonunun PDAC prognozu üzerinde de etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (11).

Ki-67

Tüm omurgalılarda eksprese edilen bir nükleer DNA bağlayıcı protein olan Ki-67, tümörleri derecelendirmek için yaygın olarak kullanılan bir proliferasyon belirteçidir (124). Nükleuslarda hücre döngüsü analizinden elde edilen çok sayıda rapor, Ki-67'nin hücre döngüsünün G1, S ve G2 fazlarında bulunurken G0 fazında bulunmaması nedeniyle hücre proliferasyon belirteci olduğu düşünülmüştür. Ki-67 proliferasyon indeksi birçok kanserde hücre proliferasyon markerı olarak kullanılır (125). Yüksek Ki-67 indeksi genellikle kötü prognozu gösterir. Ki-67 giderek; akciğer, mesane, meme, serviks ve ürotelyal karsinomları ile lenfomada prognostik, prediktif ve potansiyel terapötik hedef olarak değer kazanmaktadır (126). Ki-67 ekspresyonu PDAC'de hastalısız sağkalım ve hastalık spesifik sağkalım ile anlamlı derecede korele saptanmıştır. Ayrıca, Ki-67 indeksi tümör derecesi ile güçlü korelasyon göstermektedir (127).

GEREÇ VE YÖNTEM

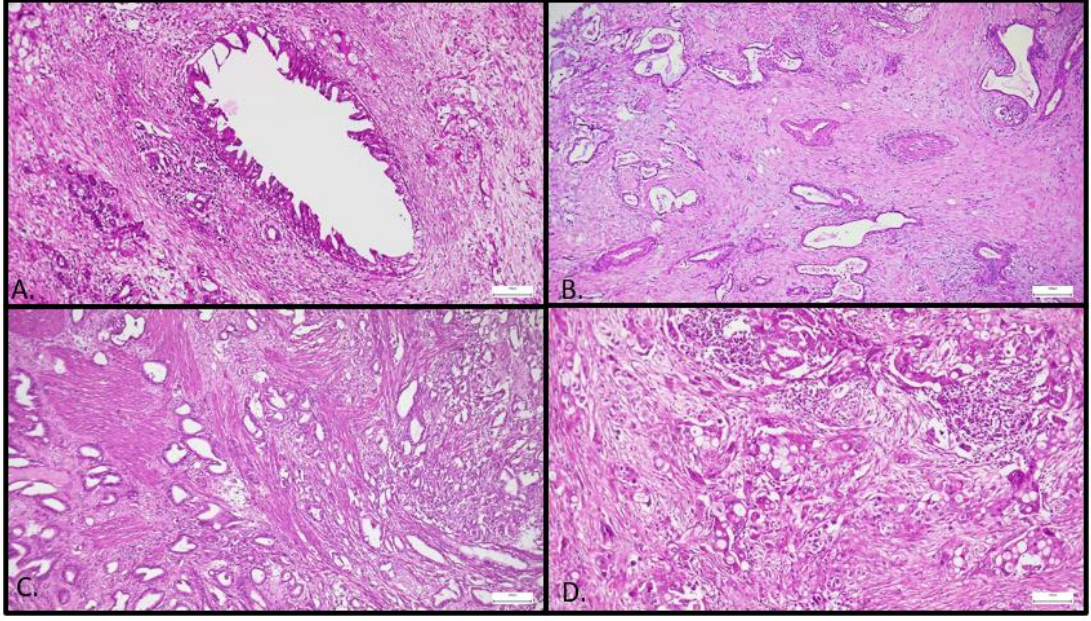
‘Pankreasın Duktal Adenokarsinomunda Klinikopatolojik Değerlendirme’ adlı tez çalışmamız için Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma Etik Kurulu tarafından 10/06/2020 tarih ve 60116787-020/34114 sayılı kurul toplantısında kurul kararı ile etik kurul onayı alındı.

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı’nda Aralık 2002- Ocak 2020 yılları arasında Whipple prosedürü, distal pankreatektomi, pankreas eksizyonel biyopsi ve pankreas insizyonel biyopsi materyallerinde raporlanan ve PDAC tanısı alan 88 olgu dahil edildi. Arşivdeki %10 tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edilerek takibe alınan ve parafine gömü dokulardan elde edilen Hematoksilen-Eozin boyalı kesitler tanı revizyonu yapılarak; histolojik diferansiyasyon derecesi (Şekil 9.A, B, C), PanIN (Şekil 9.D), PNİ (Şekil 10.A), Vİ (Şekil 10.B, C) LVİ (Şekil 10.D), lenf nodu metastazı ve cerrahi sınır invazyonu açısından tekrar incelendi. Ayrıca olguların tümünde patolojik TNM evresi AJCC 8. basım sınıflamasına göre yeniden değerlendirildi. Olgulara ait yaş, cinsiyet, tümör çapı, tümör yerleşimi patoloji raporlarından elde edildi. Lokal rekürrens, uzak metastaz, takip süresi, genel sağkalım, progresyonsuz sağkalım, sağkalım-ölüm durumu ile ilgili bilgiler olgulara ait hasta dosyalarından elde edildi. Olguların tümünde doku boyutu, yeterliliği, tespit ve takip kalitesi göz önünde bulundurularak tümörün ve PanIN’in en yoğun olduğu, immünohistokimyasal incelemeye uygun doku blokları seçildi. İmmünohistokimyasal inceleme için seçilen parafin bloklardan 3 mikron kalınlığında kesitler poli-L-lizinli lamlara alındı. Sonrasında deparafinizasyon işlemi için bir gece etüvde 56-60°C sıcaklıkta bekletildi. Daha sonra kesitler antijen retrieval işlemi de dahil olmak üzere tüm boyama aşamalarını sabit ısı ve koşullarda gerçekleştiren tam otomatik immünohistokimya cihazında (VENTANA, Benchmark Ultra, Ventana Medical Systems, USA) boyandı. Her bir olguya ait kesitlere primer antikor olarak MCT-1 fare monoklonal antikor (Dilüsyon: 1/100, Klon: H-1, Katolog No: sc-365501, Santa Cruz Technology Laboratory, INC.), MCT-4 fare poliklonal antikor (Dilüsyon: 1/100, Klon: D-1, Katolog No: sc-376140 Santa Cruz Technology Laboratory, INC.), SMAD-4 fare monoklonal antikor (Dilüsyon: 1/100, Klon: B-8, Katolog No: sc-7966, Santa Cruz Biotechnology, INC.), CD10 tavşan monoklonal

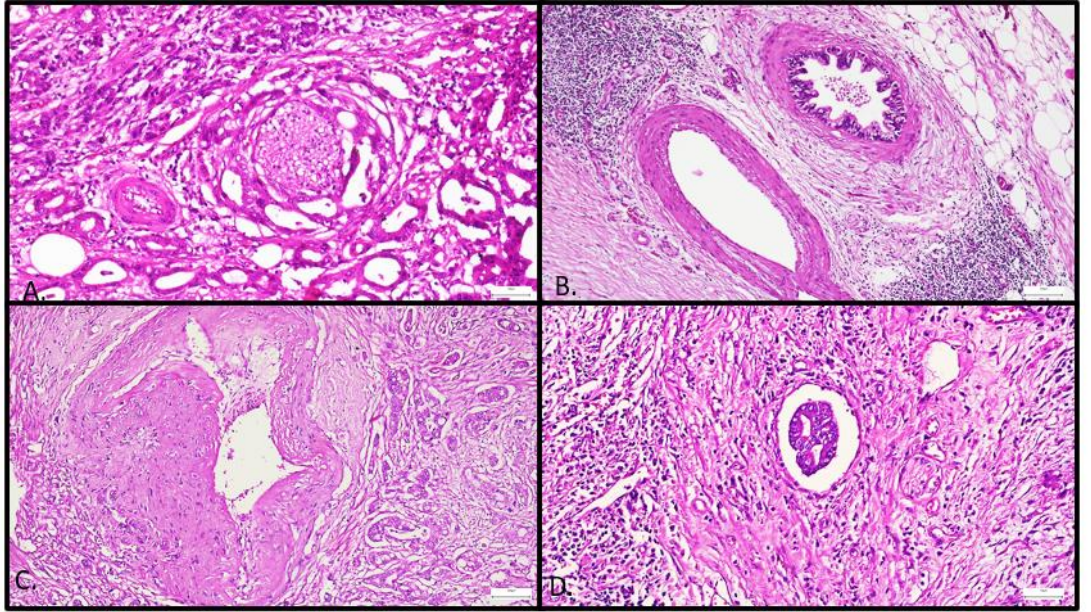
antikoru (Kullanıma hazır, Klon: SP67, Katolog No: 790-4506, Ventana, USA), SM-düz kas aktin tavşan monoklonal antikoru (Kullanıma hazır, Klon:1A4, Katolog No: 202M-90 , NexES, Reagent, Cell Marque), Ki67 tavşan monoklonal antikoru (Kullanıma hazır, Klon: 30-9, Katolog No: 790-4286, Ventana USA), vimentin fare monoklonal antikoru (Kullanıma hazır, Klon:V-9, Katolog no: AM074-5M, Biogenex) damlatılarak hedeflenen proteinler görünür hale getirildi. Çalışmamızda kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerin özellikleri Tablo 4’te gösterilmiştir. Kesitler artan oranlarda alkol solüsyonlarından geçirilerek rehidrate edildi. Kesitlerin zıt boyanması Harris Hematoksilen ile yapıldı. Havada kurutulduktan ve ksilene daldırılıp çıkarıldıktan sonra entellan ile kapatıldı.

Tablo 4: Çalışmamızda kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerin özellikleri

İmmünohistokimyasal Belirteç	Klon	Marka	Dilüsyon	Pozitif kontrol
MCT1	H-1	Santa Cruz	1/100	İntestinal mukoza
MCT4	D-1	Santa Cruz	1/100	İntestinal mukoza
SMAD4	B-8	Santa Cruz	1/100	İntestinal mukoza
Vimentin	V-9	Biogenex	Kullanıma hazır	Tümör içermeyen pankreas ve komşu dokular
Düz kas aktin	1A4	Cell Marque	Kullanıma hazır	Tümör içermeyen pankreas ve komşu dokular
CD10	SP67	Ventana	Kullanıma hazır	Tümör içermeyen pankreas ve komşu dokular
Ki67	30-9	Ventana	Kullanıma hazır	Tümör içermeyen pankreas ve komşu dokular



Şekil 9: PDAC’de farklı diferansiyasyon alanları: A) Yüksek dereceli PanIN (100x), B) İyi diferansiye tümöral proliferasyon (50x), C) Orta derecede diferansiye tümöral proliferasyon (100x), D) Az diferansiye tümöral proliferasyon (100x)



Şekil 10: PDAC’de invazyon örnekleri: A) PNI (200x); B, C) VI (100x); D) LVI (200x)

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL MARKER DEĞERLENDİRME METODLARI

MCT1, MCT4 ve SMAD4 için pozitif kontrol olarak tümör içermeyen intestinal mukoza kullanıldı. Düz kas aktin, vimentin, Ki67, CD10 için komşu pankreas dokudaki ekspresyonlar pozitif kontrol olarak kullanıldı. MCT1 ve MCT4 ile sitoplazmik ve/veya membranöz ekspresyon, SMAD4 ile sitoplazmik, membranöz ve/veya nükleer ekspresyon, Ki67 ile nükleer ekspresyon, CD10 ile membranöz ve/veya sitoplazmik ekspresyon, vimentin ile tümör hücrelerinde sitoplazmik ve/veya membranöz ekspresyon, düz kas aktin ile sitoplazmik ekspresyon pozitif kabul edildi. İmmünohistokimyasal boyama sonrası tüm örnekler ışık mikroskopunda (Olympus BX51) değerlendirildi.

MCT1, MCT4 ve SMAD4 immünohistokimyasal ekspresyon sonuçlarını değerlendirmede tümör hücrelerindeki ekspresyon oranları ve şiddetleri ile varsa yüksek dereceli PanIN hücrelerinde ekspresyon oranları ve şiddetleri semikantitatif olarak (negatif, +, ++, +++) skorlanmıştır. Ekspresyon oranı değerlendirmesi yapılırken negatif, %0-30: +, %31-70: ++; >%70: +++ olarak skorlanmıştır. Ayrıca MCT4 ile tümör stromasındaki ekspresyon da semikantitatif olarak (negatif, +, ++, +++) skorlanmıştır. İki olguda MCT4 değerlendirmesi teknik nedenlerden dolayı yapılamamıştır.

Ki67 değerlendirilirken tümör hücrelerinde ekspresyon yüzdesi saptanmıştır. Ki67 ile klinikopatolojik parametreler istatistiksel olarak karşılaştırılırken nicel değerler kullanılırken, genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım karşılaştırılırken ekspresyon oranı \leq %50 ve $>$ %50 şeklinde iki gruba ayrılarak değerlendirme yapılmıştır.

Vimentin ile tümör hücrelerinde ekspresyon değerlendirilmiştir. CD10 ile tümör hücrelerinde ekspresyon ile TME'de bulunan TAM'larda ekspresyon değerlendirilmiştir. Düz kas aktin ile tümör hücrelerinde ekspresyon ile TME'de bulunan CAF'larda ekspresyon değerlendirilmiştir.

SMAD4, Vimentin, CD10 ve düz kas aktin tümör ekspresyonları ve MCT4 stromal hücre ekspresyonu semikantitatif olarak (negatif, +, ++, +++) skorlanmıştır. Ancak bu antikörlerle ekspresyon pozitif veya negatif olmalarına göre sınıflandırılarak

istatistiksel inceleme yapılmıştır. MCT1 ve MCT4 ile tümör hücreleri ve PanIN hücrelerinde ekspresyon var ise skorları negatif ve + olan vakalar bir grup; skorları ++ ve +++ olan vakalar ise ikinci bir grup halinde sınıflandırılarak istatistiksel inceleme yapılmıştır.

Tümör hücreleri ve yüksek dereceli PanIN hücrelerindeki MCT1, MCT4 ve SMAD4 antikor değerlendirmelerinde ek olarak H skorları hesaplanmıştır. H skoru hesaplanırken; immünohistokimyasal ekspresyon oranı ile şiddeti (negatif:0, +:1, ++:2, +++:3) birbiriyle çarpılmıştır. H skoru sonuçları en düşük 0, en yüksek 300 değerleri arasında değişmektedir. Bütün istatistiksel değerlendirmeler H skoru kullanılarak tekrar edilmiştir ve anlamlı sonuçlar dikkate alınmıştır.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sürekli verilere ilişkin tanımlayıcı istatistiklerde ortalama standart sapma, ortanca, minimum, maksimum değerleri; kesikli verilerde ise sayı ve yüzde değerleri verildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun incelenmesinde Kolmogorov-Smirnov testinden yararlanıldı.

Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar Ki-kare test ile incelendi. Sağkalım incelemelerinde; Kaplan Meier sağkalım analizi ve bağımsız gruplar arasındaki sağkalımların farklılıklarını incelemek için log rank yöntemi kullanıldı. Ayrıca sağkalım üzerinde etkili olan faktörleri belirlemek için de Cox Regresyon Analizi yöntemi kullanıldı.

Değerlendirmelerde IBM SPSS Statistics 20 programı kullanıldı ve istatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p < 0,05$ kabul edildi.

BULGULAR:

KLİNİKOPATOLOJİK BULGULAR

Çalışmaya PDAC tanılı 88 olgu dahil edildi. Olguların 51'i (%58) erkek, 37'si (%42) kadındır. Erkek/kadın oranı yaklaşık 1,3/1'dir. Hastaların yaş ortalaması 64,49±10,45 yıldır (ortanca 64). En küçük yaş 38, en büyük yaş 94'tür.

Tümör çapı ortalama 3,15±1,24 cm'dir (ortanca 3 cm). En büyük tümör çapı 6,5 cm, en küçük tümör çapı 1 cm'dir.

Seksen sekiz olgunun 73'ünde (%83) ameliyat prosedürü Whipple prosedürü, 11 olguda (%12,5) distal pankreas rezeksiyonudur. Olguların 4'ünde (%4,5) biyopsi şekli insizyonel biyopsidir. İnsizyonel biyopsi olguları tümör boyutu ve cerrahi sınır hesaplamalarına dahil edilmemiştir.

Hasta dosyalarında tedavi bilgisi bulunan 48 olgunun 43'ü (%89,5) postoperatif kemoterapi, 25'i (%52,1) postoperatif radyoterapi almıştır.

Hasta dosyalarında progresyon bilgisi bulunan 45 hastadan 27'sinde (%60) progresyon izlenmiştir.

Olguların 36'sında (%40,9) görüntüleme teknikleri ile gösterilmiş veya biyopsi ile kanıtlanmış metastaz izlenmiştir. Bu olguların 23'ünde (%63,8) karaciğer metastazı, 20'sinde (%55,5) diğer bölgelere metastaz izlenmiştir.

Olguların histolojik diferansiyasyonu 7'sinde (%8,3) iyi diferansiye, 56'sında (%66,7) orta derecede diferansiye ve 21'inde (%25) az diferansiyedir.

Olguların 72'si (%81,8) klasik PDAC morfolojisindedir. Olguların 7'sinde (%7,9) berrak hücre değişikliği, 4 olguda (%4,5) büyük duktus tipi değişiklik, 2 olguda (%2,2) asiner hücreli değişiklik, 3 olguda (%3,4) ise fokal skuamöz diferansiyasyon izlenmiştir. İstatistiksel analiz yapılırken tümörün klasik PDAC morfolojisinde olup olmamasına göre karşılaştırma yapılmıştır.

Olguların 5'inde (%5,7) pankreatit izlenmiştir.

Cerrahi sınırı değerlendirilebilen 84 olgunun 23'ünde (%28) tümör cerrahi sınırlarda devam etmektedir. Bunların arasında 5 olguda (%21,7) distal pankreas cerrahi sınır, 18 olguda (%78,2) retroperitoneal cerrahi sınır, 1 olguda (%4,3) koledok cerrahi sınır ve 2 olguda (%8,6) sirkumfarensiyel cerrahi sınırlarda tümör devamlılık göstermektedir.

Olguların 82'sinde (%97,6) PNI, 55'inde (%64,7) LVI, 25'inde (%29,8) VI saptanmıştır.

Olguların 63'ünde (%75) yüksek dereceli PanIN izlenmiştir.

Tümör boyutuna göre yapılan T sınıflamasına göre 12 olgu (%13,6) T1, 58 olgu (%65,9) T2, 14 olgu (%15,9) T3 sınıfındadır. Olguların 4'ü (%4,5) insizyonel biyopsi olduğu için bu olgulara T evresi verilememiştir (Tx).

Lenf nodu metastazı sayısına göre yapılan N sınıflaması dağılımında; 26 olgu (%29,5) N0, 46 olgu (%52,3) N1, 10 olgu (%11,4) N2 sınıfındadır. Lenf nodu değerlendirmesi yapılamamış olan 6 olgu (%6,8) için N evresi verilememiştir (Nx). Klinikopatolojik özellikler tablo 5'te belirtilmiştir.

Tablo 5: Klinikopatolojik özelliklerin dağılımı

	Ort ± SS	
	Ortanca (Min-Max)	
Tanı yaşı (yıl)	64,49±10,45 64 (38-94)	
Tümör boyutu (cm) (n=83)	3,15±1,24 3 (1-6,5)	
	Sayı	%
Cinsiyet		
Erkek	51	58
Kadın	37	42
Ameliyat prosedürü		
Whipple	73	83
Distal pankreas rezeksiyonu	11	12,5
Diğer	4	4,5
Kemoterapi (n=48)		
Yok	5	10,5
Var	43	89,5
Radyoterapi (n=48)		
Yok	23	47,9
Var	25	52,1
Progresyon (n=45)		
Yok	18	40
Var	27	60
Metastaz		
Yok	52	59,1
Var	36	40,9
Karaciğer metastazı (n=36)		
Yok	65	73,9
Var	23	26,1

Diğer metastaz		
Yok	68	77,3
Var	20	22,7
Histolojik diferansiyasyonu		
İyi diferansiye	7	8,3
Orta derecede diferansiye	56	66,7
Az diferansiye	21	25
Pankreatit		
Yok	83	94,3
Var	5	5,7
Cerrahi sınır (n=82)		
İntakt	59	72
Tümör devam ediyor	23	28
Distal pankreas cerrahi sınır (n=82)		
İntakt	77	93,9
Tümör devam ediyor	5	6,1
Retroperitoneal cerrahi sınır (n=82)		
İntakt	64	78
Tümör devam ediyor	18	22
Koledok cerrahi sınır		
İntakt	81	98,8
Tümör devam ediyor	1	1,2
Sikumferansiyel cerrahi sınır		
İntakt	84	97,7
Tümör devam ediyor	2	2,3
PNİ		
Yok	2	2,4
Var	82	97,6
LVİ		
Yok	30	35,3
Var	55	64,7
Vİ		
Yok	59	70,2
Var	25	29,8
Yüksek dereceli PanIN (n=84)		
Yok	21	25
Var	63	75
Vital durum		
Hayatta	15	17
Ex	73	83
T kalsifikasyonu		
pT1	12	13,6
pT2	58	65,9
pT3	14	15,9
Tx	4	4,5
N kalsifikasyonu		
N0	26	29,5
N1	46	52,3
N2	10	11,4
Nx	6	6,8

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

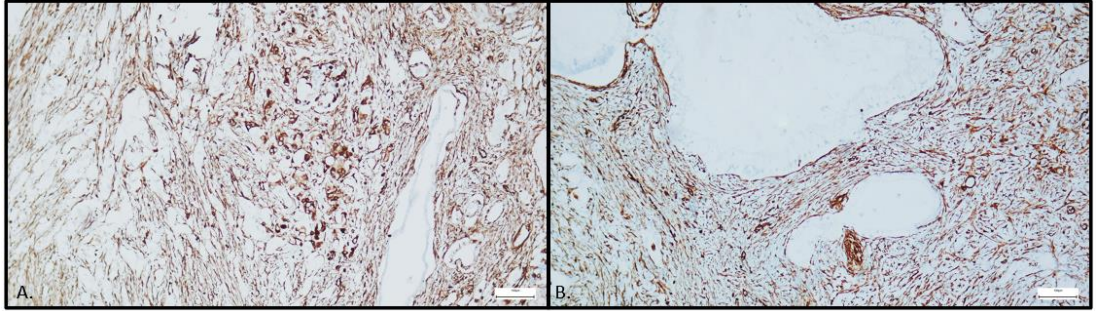
Tümör hücrelerinde vimentin ekspresyonu olguların 75'inde (%85,2) negatif, 13'ünde (%14,8) pozitif saptandı. Tüm olgularda tümör stromasında vimentin ile boyanma izlendi.

Olguların 76'sında (%86,4) tümör hücreleri CD10 negatif, 12'sinde (%13,6) pozitif saptandı. TME'de bulunan TAM'larda olguların 72'sinde (%81,8) CD10 pozitif, 16'sında (%18,2) negatiftir.

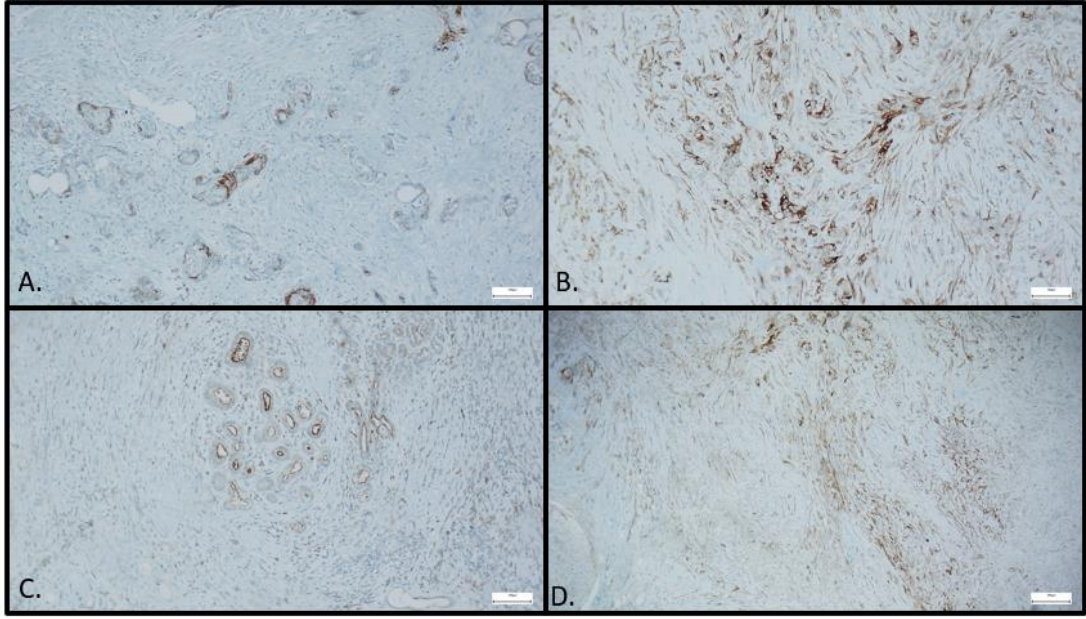
Olguların 1'inde (%1,1) tümör hücrelerinde düz kas aktin ile fokal ekspresyon izlendi. Tüm olgularda düz kas aktin ile stromada CAF ekspresyonu mevcuttu.

Ki67 ile ekspresyon oranı \leq %50 olan 39 olgu (%44,3), $>$ %50 olan 49 olgu (%55,7) mevcuttur.

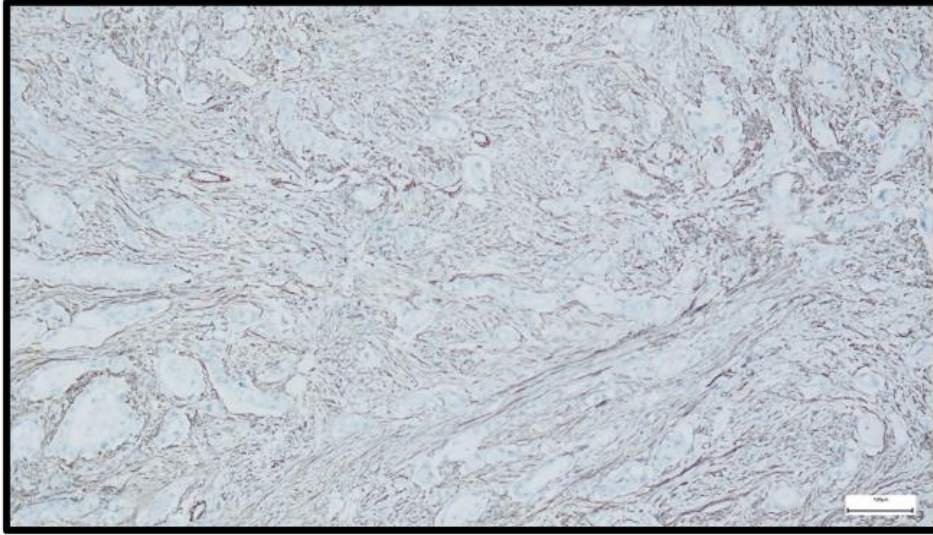
İmmünohistokimyasal ekspresyonlara ait fotoğraflar Şekil 11-17'de gösterilmiştir.



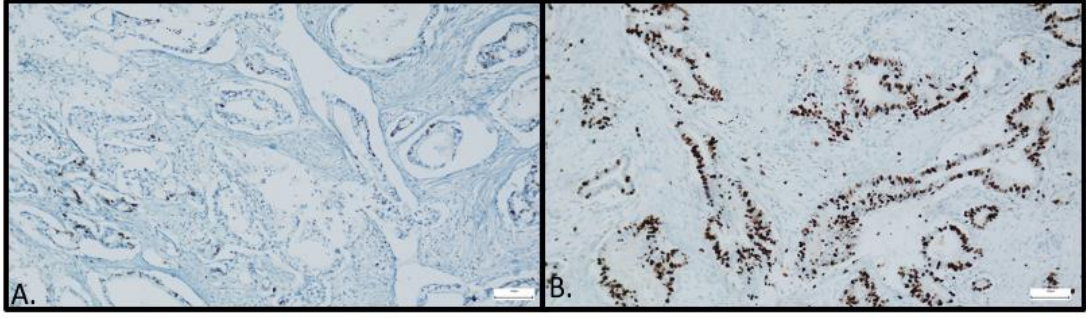
Şekil 11: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı vimentin ekspresyonları: A) Tümörde vimentin ile pozitif ekspresyon (100x), B) Tümörde vimentin ile negatif ekspresyon (100x)



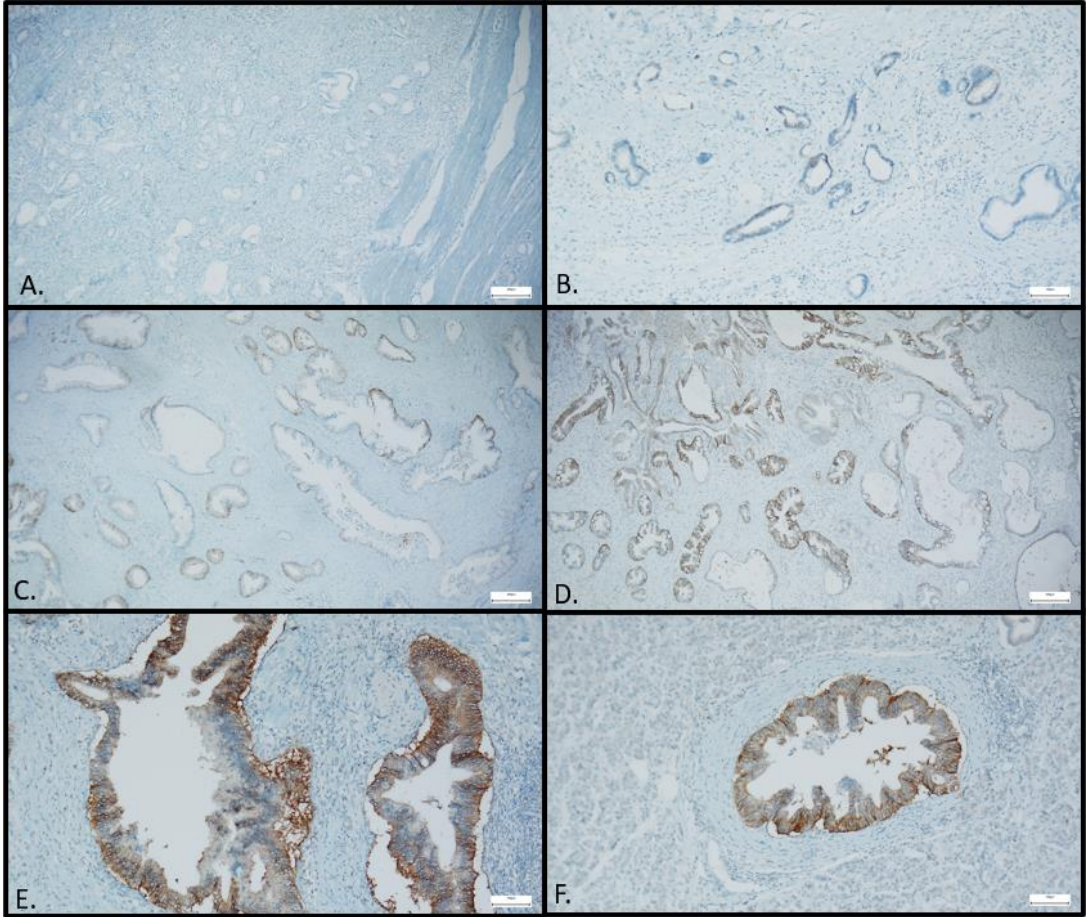
Şekil 12: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı CD10 ekspresyonları: A, B) Tümörde CD10 ile pozitif ekspresyon (100x), C) Tümörde CD10 ile lüminal pozitif ekspresyon (100x), D) Tümör stromasında CD10 ile pozitif boyanma(50x)



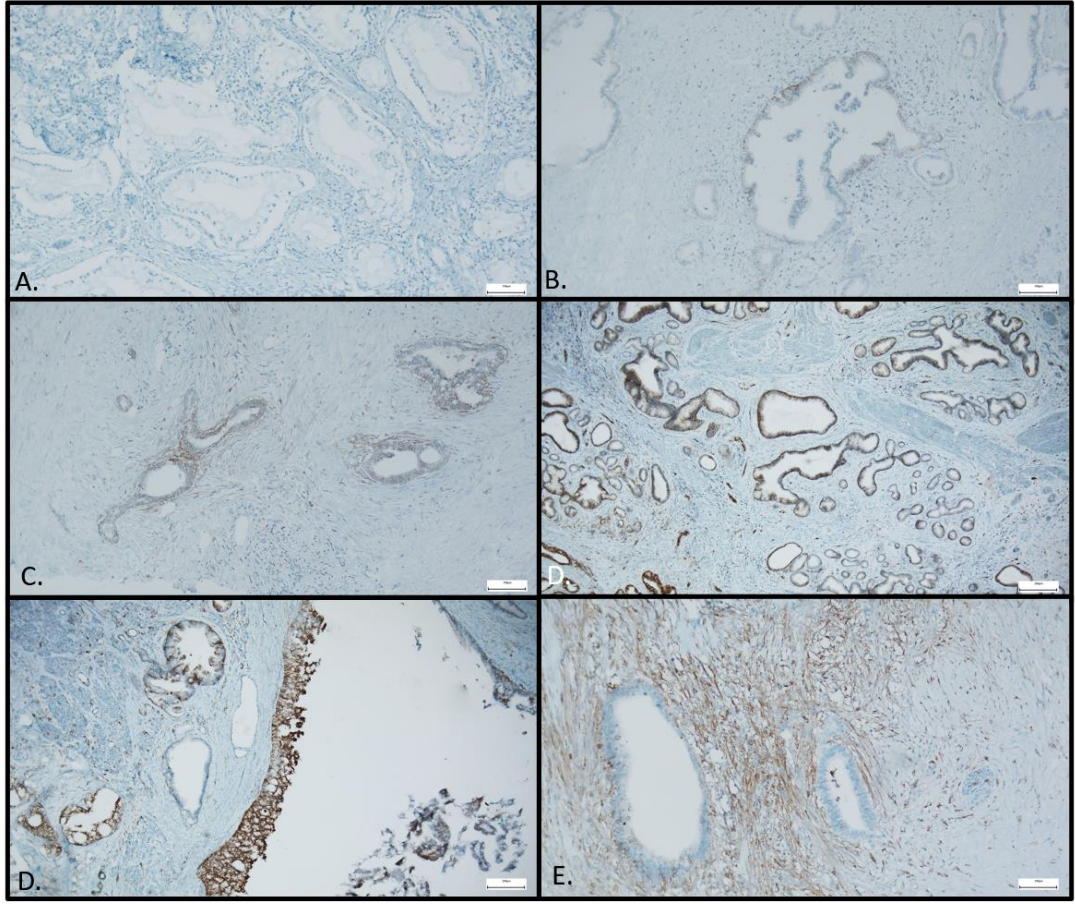
Şekil 13 İmmünohistokimyasal yöntemle düz kas aktin ekspresyonu: Tümör stromasında düz kas aktin ile +++ ekspresyon (x100)



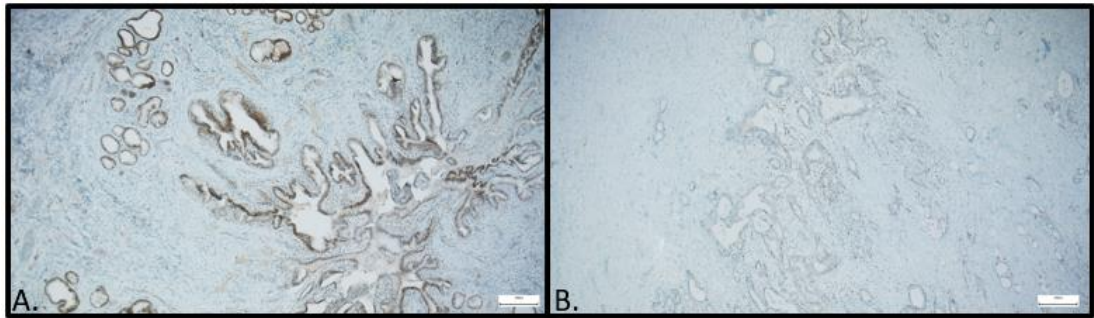
Şekil 14: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı Ki67 ekspresyonları: A) Ki67 ile tümörde \leq %50 ekspresyon (100x), B) Ki67 ile tümörde $>$ %50 ekspresyon (100x)



Şekil 15: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı MCT1 ekspresyonları: A) MCT1 ile tümörde negatif ekspresyon (50x), B) MCT1 ile tümörde + ekspresyon (100x), C) MCT1 ile tümörde ++ ekspresyon (50x), D) MCT1 ile tümörde +++ ekspresyon (50x), E) MCT1 ile tümörde +++ ekspresyon (100x), F) MCT1 ile yüksek dereceli PanIN'de +++ ekspresyon (100x)



Şekil 16: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı MCT4 ekspresyonları: A) MCT4 ile tümörde negatif ekspresyon (100x), B) MCT4 ile tümörde + ekspresyon 100x), C) MCT4 ile tümörde ++ ekspresyon (50x), D) MCT4 ile tümörde +++ ekspresyon 50x), E) MCT4 ile yüksek dereceli PanIN'de +++ ekspresyon (50x), F) MCT4 ile tümör stromasında pozitif ekspresyon (50x)



Şekil 17: İmmünohistokimyasal yöntemle farklı SMAD4 ekspresyonları: A) SMAD4 ile yüksek dereceli PanIN'de +++ ekspresyon (50x), B) SMAD4 ile tümörde negatif ekspresyon (50x)

Tüm immünohistokimyasal markerların ayrıntılı bulguları tablo 6’da gösterilmiştir. H skoru sonuçları ve Ki67 ekspresyon bulguları tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 6: İmmünohistokimyasal ekspresyon bulguları

	Negatif	+	++	+++
	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)
MTC1 tümör hücresi ekspresyon oranı	17 (19,3)	16 (18,2)	40 (45,5)	15 (17)
MTC1 tümör hücresi ekspresyon şiddeti	17 (19,3)	6 (6,8)	44 (50)	21 (23,9)
MTC1 PanIN hücresi ekspresyon oranı	26 (35,1)	4 (5,4)	29 (39,2)	15 (20,3)
MTC1 PanIN hücresi ekspresyon şiddeti	26 (35,1)	10 (13,5)	22 (29,7)	16 (21,6)
MTC4 tümör hücresi ekspresyon oranı	7 (8,1)	17 (19,8)	41 (47,7)	21 (24,4)
MTC4 tümör hücresi ekspresyon şiddeti	7 (8,1)	6 (7,0)	37 (43)	36 (41,9)
MTC4 PanIN hücresi ekspresyon oranı	16 (22,2)	13 (18,1)	35 (48,6)	8 (11,1)
MTC4 PanIN hücresi ekspresyon şiddeti	16 (22,2)	12 (16,7)	36 (50)	8 (11,1)
SMAD4 tümör hücresi ekspresyon oranı	63 (71,6)	9 (10,2)	15 (17)	1 (1,1)
SMAD4 tümör hücresi ekspresyon şiddeti	63 (71,6)	10 (11,4)	9 (10,2)	6 (6,8)
SMAD4 PanIN hücresi ekspresyon oranı	4 (5,4)	3 (4,1)	48 (64,9)	19 (25,7)
SMAD4 PanIN hücresi ekspresyon şiddeti	4 (5,4)	3 (4,1)	35 (47,3)	32 (43,2)
Vimentin tümör hücresi ekspresyon oranı	75 (85,2)	7 (8,0)	6 (6,8)	-
Vimentin tümör hücresi ekspresyon şiddeti	75 (85,2)	-	2 (2,3)	11 (12,5)
Düz kas aktin tümör hücresi ekspresyon oranı	87 (98,9)	1 (1,1)	-	-
Düz kas aktin tümör hücresi ekspresyon şiddeti	87 (98,9)	-	1 (1,1)	-
CD10 tümör hücresi ekspresyon oranı	76 (86,4)	8 (9,1)	4 (4,5)	-
CD10 tümör hücresi ekspresyon şiddeti	76 (86,4)	1 (1,1)	11 (12,5)	-
CD10 tümör glandlarında lüminal boyanma	71 (80,7)	17 (19,3)	-	-
MCT4 tümörde stromal ekspresyon	40 (46,5)	8 (9,3)	37 (43)	1 (1,2)
Vimentin tümörde stromal ekspresyon	-	2 (2,3)	31 (35,2)	55 (62,5)
Düz kas aktin CAF’larda ekspresyon	-	15 (17)	52 (59,1)	21 (23,9)
CD10 ile TAM’larda ekspresyon	16 (18,2)	36 (40,9)	28 (31,8)	8 (9,1)

Tablo 7: H skoru ve Ki67 ekspresyon bulguları

	Ort ± SS	Ortanca (Min-Max)
MTC1 Tümör H skoru	115,95±87,69	132 (0-300)
MTC1 PanIN H skor	105,80±104,64	83 (0-300)
MTC4 Tümör H skoru	154,62±93,08	132 (0-300)
MTC4 PanIN H skor	95,94±75,90	66 (0-300)
SMAD4 Tümör H skoru	31,12±60,94	0 (0-198)
SMAD4 PanIN H skor	171,47±83,38	132 (0-300)
Ki67	49,59±20,73	49,50 (15-90)

İmmünohistokimyasal bulgular ile cinsiyet, yaş, tümör çapı, tümörün histolojik diferansiyasyonu, LVİ, PNİ, Vİ, yüksek dereceli PanIN, lenf nodu metastazı varlığı,

cerrahi sınırdaki tümör devamlılığı, metastaz varlığı istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

MCT1 ile tümörde ekspresyon şiddeti ve tümör boyutu arasında istatistiksel olarak fark saptandı. MCT1 ile tümörde ekspresyon şiddeti skoru 0+1 olanlarla 2+3 olanların tümör boyutları arasında fark saptandı ($p<0,05$) (tablo 8). MCT1 ile tümörde ekspresyon şiddeti skoru 2 ve 3 olanların tümör boyutu daha büyük idi. Tümör boyutu ile MTC1-H skoru arasında ilişki saptandı ($p<0,01$). Tümör boyutu arttıkça MTC1-H skoru artmaktadır.

Tablo 8: MCT1 tümör hücresi ekspresyon şiddeti ile tümör boyutunun karşılaştırılması

	Tümör boyutu		p*
	Ort ± SS	Ortanca (Min-Maks)	
MCT1 tümör hücresi ekspresyon şiddeti			
Skor 0+1	2,60±1,02	2,5 (1 – 5,3)	0,013
Skor 2+3	3,34±1,27	3 (1,2- 6,5)	

* Mann Whitney U testi

SMAD4 ile tümördeki ekspresyon oranı ve metastaz varlığı arasında istatistiksel olarak fark saptandı ($p<0,05$) (tablo 9). Metastazı olan olgularda tümörde SMAD4 kaybı daha fazla idi.

Tablo 9: Metastaz olan ve olmayan olgularda SMAD4 ile tümör hücresi ekspresyon oranı karşılaştırılması

	Metastaz yok		Metastaz var		p*
	Sayı	%	Sayı	%	
SMAD4 tümörde ekspresyon oranı					
Negatif	33	63,5	30	83,3	0,042
Pozitif	19	36,5	6	16,7	

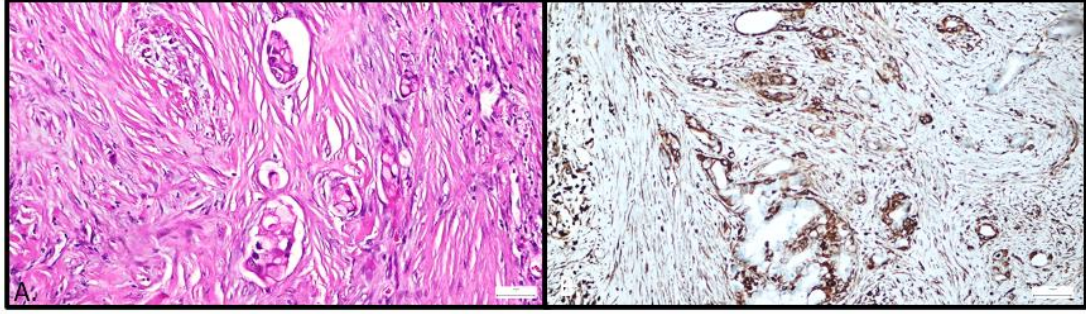
* Ki-kare test

Vimentin ile tümörde ekspresyon oranı ve LVİ arasında istatistiksel olarak fark saptandı ($p<0,05$) (tablo 10). LVİ (Şekil 18.A) olan olgularda vimentin (Şekil 18.B) ile tümördeki pozitiflik oranı daha fazla idi.

Tablo 10: LVİ ile vimentin tümör hücresi ekspresyon oranı karşılaştırılması

	LVİ yok		LVİ var		p*
	Sayı	%	Sayı	%	
Vimentin ile tümör hücresi ekspresyonu					
Negatif	29	96,7	43	78,2	0,028
Pozitif	1	3,3	12	21,8	

* Ki-kare test



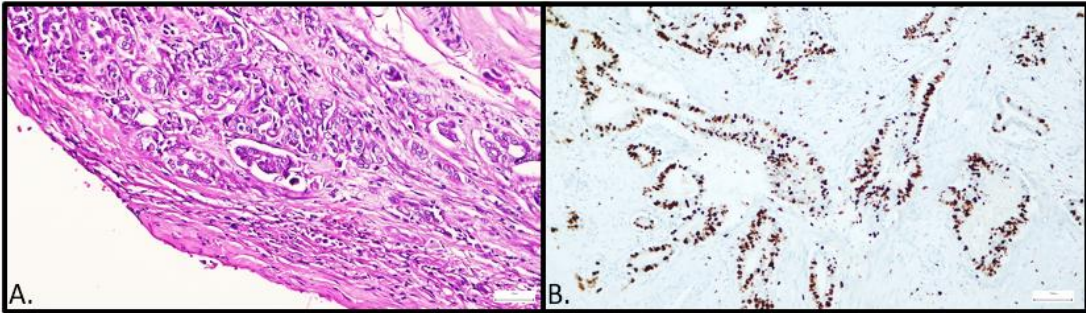
Şekil 18: LVİ (A. 200x) ve vimentin (B. 100x) ile tümörde pozitif ekspresyon

LVİ ile Ki67 arasında ilişki saptandı. LVİ (Şekil 19.A) olanlarda Ki67 (Şekil 19.B) oranları daha yüksek idi ($p < 0,01$) (Tablo 11).

Tablo 11: LVİ ile Ki67 oranları karşılaştırılması

	Ki67		p*
	Ort \pm SS	Ortanca (Min.-Maks.)	
LVİ			
Yok	39,97 \pm 19,41	30 (15 – 90)	0,002
Var	53,45 \pm 19,67	60 (15- 90)	

* Mann Whitney U testi



Şekil 19: LVİ (A. 200x) ve yüksek Ki67 (B.100x) proliferasyon indeksi

LVİ olan olgularla tümör boyutları arasında sınırdan anlamlı fark saptandı ($p = 0,05$) (Tablo 12). LVİ olan vakalarda tümör boyutu daha büyük idi.

Tablo 12:LVI ile tümör boyutunun karşılaştırılması

	Tümör boyutu		p*
	Ort ± SS	Ortanca (Min-Maks)	
LVI			
Yok	2,84±1,19	2,5 (1,1-6,5)	0,051
Var	3,31±1,12	3 (1-6,5)	

* Mann Whitney U testi

Diğer immünohistokimyasal bulgular ve H skorları ile cinsiyet, yaş, tümör çapı, tümörün histolojik diferansiyasyonu, LVI varlığı, PNI varlığı, VI varlığı, yüksek dereceli PanIN varlığı, lenf nodu metastazı varlığı, cerrahi sınırdaki tümör devamlılığı, metastaz varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

SAĞKALIM ANALİZİ

Genel Sağkalım Analizi

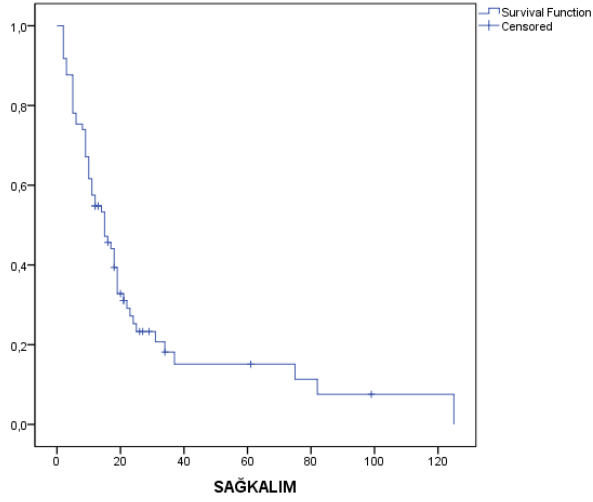
Klinikopatolojik Özelliklerin Genel Sağkalımla Karşılaştırılması

Çalışmaya katılan 88 olgudan 15'i ameliyat komplikasyonuna bağlı olarak ameliyat sonrası 1 ay içerisinde ex olmuştur. Bu hastalar sağkalım analizine dahil edilmemiştir. Sağkalım analizine dahil edilen 73 olgudan 15 olgu (%20,5) hayattadır. Olguların genel sağkalımı ortalama 27,08±4,81 ay ve ortanca sağkalımı 15±2,64 aydır (Tablo 13).

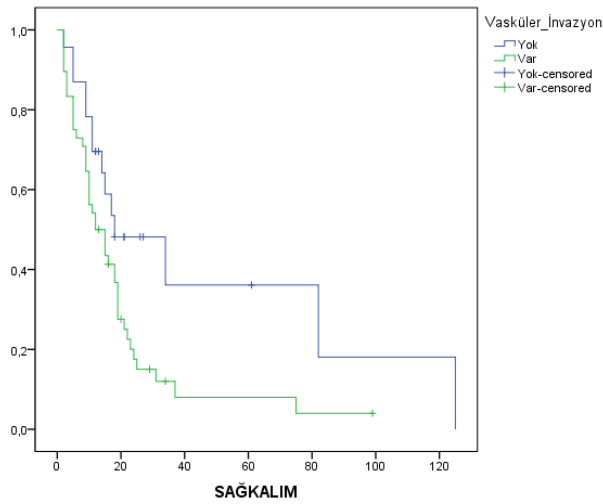
LVI saptanan olgularda genel sağkalım daha kısa saptandı (p<0,05) (Tablo 14).

Cinsiyet; kemoterapi öyküsü; radyoterapi öyküsü; metastaz varlığı; tümörün histolojik diferansiyasyonu; cerrahi sınırdaki tümör devamlılığı; pankreatit, progresyon, PNI, VI, yüksek dereceli PanIN varlığı; T sınıflaması; N sınıflaması; rekürrens gelişmesi ve genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 13: Genel Sağkalım



Tablo 14: LVİ ile genel sağkalım ilişkisi



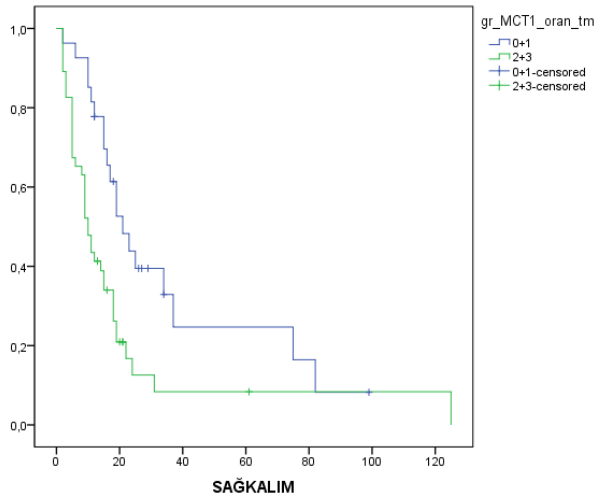
Genel Sağkalımın İmmünohistokimyasal Ekspresyonlarla ilişkisi

MCT1'in tümörde ekspresyon oran skorları arasında genel sağkalım bakımından fark saptandı ($p < 0,01$). MCT1'in tümörde ekspresyon oranları 2 ve 3 olan olgularda genel sağkalım anlamlı şekilde daha kısa idi ($p < 0,01$) (Tablo 15).

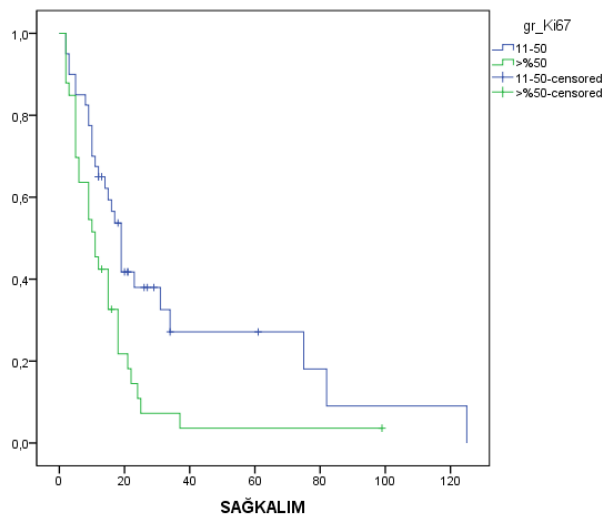
Ki67 ekspresyon oranı $> 50\%$ olan olgularda genel sağkalım daha kısa saptandı ($p < 0,01$) (Tablo 16).

MCT1 ile tümörde ekspresyon şiddeti, MCT1 ile yüksek dereceli PanIN hücrelerindeki ekspresyon oranı ve ekspresyon şiddeti, MCT4 ile tümörde ekspresyon şiddeti ve ekspresyon oranı, MCT4 ile yüksek dereceli PanIN ekspresyon oranı ve ekspresyon şiddeti, MCT4 ile stromal ekspresyon, SMAD4 ile tümör hücrelerinde ekspresyon oranı ve ekspresyon şiddeti, SMAD4 ile yüksek dereceli PanIN hücrelerinde ekspresyon oranı ve ekspresyon şiddeti, vimentin ile tümör hücrelerinde ekspresyon, düz kas aktin ile tümör hücrelerinde ekspresyon, düz kas aktin ile CAF'larda ekspresyon, CD10 ile TAM'larda ekspresyon, CD10 ile tümör hücrelerinde ekspresyon, CD10 ile tümörde lüminal boyanma bulgularıyla genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 15:MCT1 tümörde ekspresyon oranı ile genel sağkalım ilişkisi



Tablo 16: Ki67 oranı ile genel sağkalım ilişkisi



Tablo 17: Genel sağkalım için Tek değişkenli Cox regresyon analizi

Faktör	Özellik	p	Hazard Ratio	Güven aralığı (%95)
LVİ	+	0,035	1,963	1,049 – 3,672
MCT1 tümörde ekspresyon oranı	Skor 2+3	0,006	2,220	1,251 – 3,869
Ki67	>%50	0,012	1,966	1,162 – 3,326

Genel sağkalım ile anlamlı ilişkisi saptanan faktörler (LVİ, MCT1 ile tümördeki ekspresyon oranı, Ki67 ekspresyon oranları) tek değişkenli Cox regresyon analizine göre değerlendirildiğinde, LVİ olan olguların genel sağkalımı 1,963 kat daha olumsuz yönde etkilemektedir ($p < 0,05$); MCT1 ile tümörde ekspresyon oranı skoru 2+3 olanlarda, skoru 0+1 olanlara göre genel sağkalım 2,22 kat daha olumsuz yönde etkilenmektedir; Ki67 ekspresyon skoru $> \%50$ olanlarda ekspresyon skoru ≤ 50 olanlara göre genel sağkalım 1,966 kat daha olumsuz yönde etkilenmektedir (Tablo 17).

Tablo 18: Genel sağkalım için çok değişkenli Cox regresyon analizi.

Faktör	Özellik	p	Hazard Ratio	Güven aralığı (%95)
LVİ	+	0,228	1,563	0,756 – 3,031
MCT1 tümörde ekspresyon oranı	Skor 2+3	0,011	2,178	1,195 – 3,972
Ki67	>%50	0,126	1,625	0,872 – 3,031

Genel sağkalım ile anlamlı ilişkisi saptanan faktörler (LVİ, MCT1 ile tümördeki ekspresyon oranı, Ki67 ekspresyon oranları) çok değişkenli Cox regresyon analizine göre değerlendirildiğinde, MCT1 ile tümörde ekspresyon oranı skoru 2+3 olanlar skoru 0+1 olanlara göre 2,178 kat daha olumsuz yönde etkilenmektedir (Tablo 18). LVİ ve Ki67 çok değişkenli Cox regresyon analizinde anlamlı bulunmadı.

Progresyonsuz Sağkalım Analizi

Klinikopatolojik Özelliklerin Progresyonsuz Sağkalım İlişkisi

Çalışmaya katılan olgulardan progresyon bilgisi olan 45 olgunun 18'inde (%40) progresyon saptanmadı, 27 olguda (%60) progresyon saptandı. Olguların progresyonsuz sağkalım ortalaması $32,91 \pm 9,06$ ay ve ortanca progresyonsuz sağkalım $18,00 \pm 2,37$ aydır (Tablo 19).

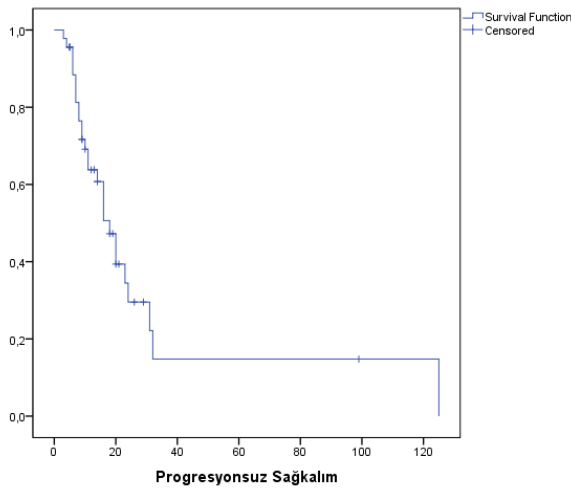
Metastaz saptanan olgularda progresyonsuz sağkalım daha kısa idi ($p < 0,001$) (Tablo 20).

Metastatik olgularının 23'ü (%26,1) karaciğer metastazı idi ve karaciğer metastazı saptanan olgularda progresyonsuz sağkalım daha kısa idi ($p < 0,01$) (Tablo 21).

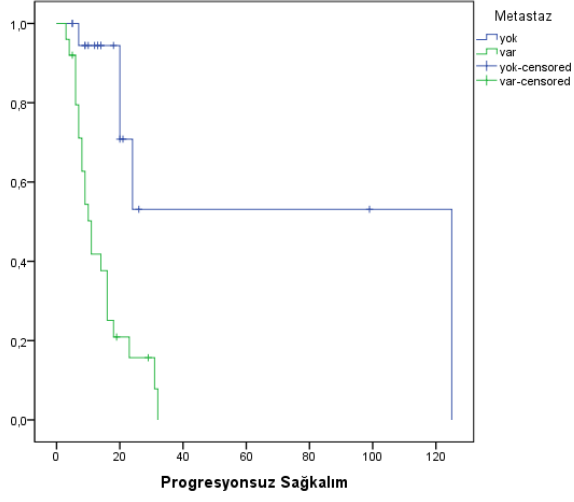
Cerrahi sınırdaki tümör devam eden olgularda progresyonsuz sağkalım daha kısa idi ($p < 0,05$) (Tablo 22).

Cinsiyet; kemoterapi öyküsü; radyoterapi öyküsü; histolojik diferansiyasyon; pankreatit, PNI, LVI, VI, yüksek dereceli PanIN varlığı; T sınıflaması; N sınıflaması ve progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

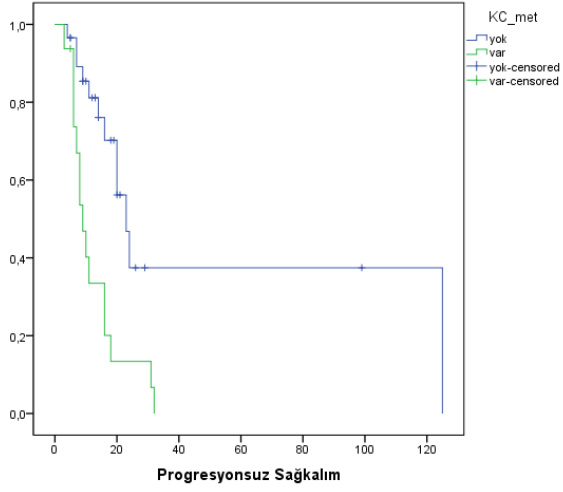
Tablo 19: Progresyonsuz sağkalım



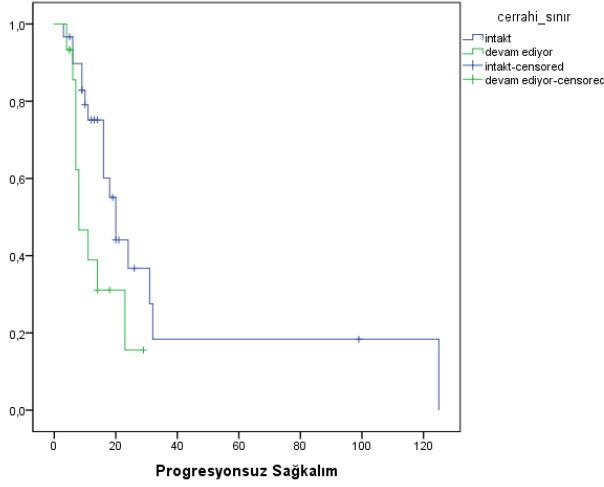
Tablo 20:Metastaz ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi



Tablo 21:Karaciğer metastazı ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi



Tablo 22: Cerrahi sınır devamlılığı ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi



İmmünohistokimyasal İnceleme ile Progresyonsuz Sağkalım İlişkisi

CD10 ile tümörde lüminal boyanma ile progresyonsuz sağkalım arasında fark saptandı ($p \cong 0,05$). CD10 ile lüminal boyanma olmayanlarda progresyonsuz sağkalım daha kısa idi.

Diğer İmmünohistokimyasal incelemeler ile progresyonsuz sağkalım ilişkili bulunmadı.

Tablo 23: Progresyonsuz Sağkalım için Tek değişkenli Cox regresyon analizi

Faktör	Özellik	p	Hazard Ratio	Güven aralığı (%95)
Metastaz	Var	0,001	6,180	2,117 – 18,039
Karaciğer metastazı	Var	0,002	3,529	1,605 – 7,758
Cerrahi sınır	Devam ediyor	0,040	2,365	1,039 – 5,383
CD10 ile tümör glandlarında lüminal boyanma	Negatif	0,053	4,188	0,984 – 17,821

Progresyonsuz sağkalım ile anlamlı ilişkisi saptanan faktörler (metastaz, karaciğer metastazı, cerrahi sınırda tümör devamlılığı, CD10 ile tümörde lüminal boyanma negatifliği) tek değişkenli Cox regresyon analizine göre

değerlendirildiğinde, metastaz bulunmasının progresyonsuz sağkalımı 6,18 kat olumsuz yönde etkilediği ($p<0,01$); karaciğer metastazı bulunmasının progresyonsuz sağkalımı 3,529 kat olumsuz yönde etkilediği ($p<0,01$); cerrahi sınırdaki tümörün devam etmesinin progresyonsuz sağkalımı 2,365 kat olumsuz yönde etkilendiği saptandı ($p<0,05$) (Tablo 23).

Tablo 24: Progresyonsuz Sağkalım için çok değişkenli Cox regresyon analizi

Faktör	Özellik	p	Hazard Ratio	Güven aralığı (%95)
Metastaz	Var	0,075	3,374	0,887 – 12,842
Karaciğer metastazı	Var	0,181	2,014	0,722 – 5,617
Cerrahi sınır	Devam ediyor	0,142	2,018	0,791 – 5,149

Progresyonsuz Sağkalım ile anlamlı ilişkisi saptanan faktörler (metastaz, karaciğer metastazı, cerrahi sınırdaki tümör devamlılığı) çok değişkenli Cox regresyon analizine göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 24).

TARTIŞMA

Pankreas kanseri için 1975-2016 döneminde genel insidans oranı 100.000 kişide ortalama 9,3 idi. Pankreas kanseri insidans oranları 1975'te 100.000 kişide 8,3'ten 2016'da 100.000 kişide 11'e yükselmiştir (34). 1975'ten 2016'ya kadar ABD'deki başlıca kanser türlerinin (prostat, meme, akciğer ve bronş, kolorektal ve pankreas kanseri) insidans oranlarındaki eğilimi karşılaştırıldığında pankreas kanseri, insidansı sürekli ve istikrarlı bir artış gösteren tek malignitedir (128). Ülkemizde yapılan kanser istatistik araştırmalarına göre 2017 senesinde 50-49 yaş grubu erkeklerde en sık görülen dokuzuncu kanserdir. Yetmiş yaş ve üzeri grupta ise erkeklerde en sık altıncı, kadınlarda ise en sık beşinci kanserdir (129). Bilinen pankreas kanseri risk faktörleri arasında sigara, kronik pankreatit, fazla yağ içeren beslenme, tip 2 diabetes mellitus bulunur (130).

Çalışmamızdaki olguların 73'ü (%83) takip sürecinde ex olmuştur, 15 olgu (%17) hayattadır. Olguların genel sağkalımı ortalama 15,8 aydır. Progresyonsuz sağkalımları ise 17,9 aydır.

PDAC'de tümör derecesi değerlendirilirken glandüler diferansiyasyona göre sınıflandırılır. Diferansiyasyon derecelerine göre iyi diferansiye (grade 1), orta derecede diferansiye (grade 2) ve az diferansiye (grade 3) olmak üzere 3 gruba ayrılır (131). Tümör derecesi, sağkalım için bağımsız bir prognostik faktör olarak tanımlanmıştır (131, 132). Az diferansiye PDAC olgularında LVİ, bölgesel lenf nodu metastazının daha sık görülmesi ve tam rezeksiyon zorluğu nedeniyle kötü prognozla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (133, 134). Çalışmamızda histolojik diferansiyasyon derecesi ile prognostik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

PDAC'de farklı histolojik subtipler ve morfolojik paternler tanımlanmıştır. Tümörün histolojik subtipi prognoz göstergesi olabilmesi nedeniyle önemlidir. Çalışmamızda olguların 72'si (%81,8) klasik PDAC morfolojisindedir. Pankreas kanserlerinde skuamöz diferansiyasyon nadir olarak izlenir ve genellikle konvansiyonel duktal adenokarsinomlarda görülür. Tümörün adenoskuamöz olarak sınıflandırılabilmesi için en az %30 oranında skuamöz komponent içermesi

gerekmektedir (1). Tümörde herhangi bir skuamöz komponent bulunması daha kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (135). Çalışmamızda olguların 3'ünde (%3,4) fokal alanlarda skuamöz diferansiyasyon mevcuttur. PDAC'de farklı morfolojik paternler tanımlanmıştır. Bu morfolojik alt tiplerin kanıtlanmış klinik ve prognostik önemi bulunmamaktadır. Büyük duktus tipi tümörler yanıltıcı şekilde uniform duktus görünümde olabilir (51). Bu durumda neoplastik glandları non-tümöral glandlardan ayırmak zor olabilir. Çalışmamızda 4 olguda (%4,5) büyük duktus tipi değişiklik mevcuttur. Berrak hücreli PDAC morfolojisinde olgular raporlanmıştır ancak birkaç vaka çalışması dışında literatürde sistematik bir genel bakış yoktur (136). Çalışmamızda 7 olguda (%7,9) fokal berrak hücre değişikliği izlenmiştir. Asiner diferansiyasyon, neoplastik hücreler tarafından pankreas enzimlerinin üretimi olarak tanımlanır. Hücreler ince granüllü belirgin eozinofilik sitoplazmalı görünümündedir (137). Ayırıcı tanıda dikkat edilmesi gereken asiner hücreli karsinomlar oldukça agresif gidişli olmakla beraber geleneksel duktal adenokarsinomlar kadar hızlı öldürücü olmadığı öngörülmektedir (138). Çalışmamızdaki olguların 2'sinde (%2,2) asiner hücreli değişiklik izledik. Çalışmamızda istatistiksel analiz yapılırken tümörün klasik PDAC morfolojisinde olup olmamasına göre karşılaştırma yapılmış olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

Literatürde histolojik parametrelerden tümörün histolojik tipi, diferansiyasyonu, lokal yayılımı, LVİ, PNI, bölgesel lenf nodülü metastazı, cerrahi sınır durumu prognoza etkili faktörler olarak bildirilmiştir (30, 139). Biz de bu nedenle tümörün histolojik tipi, diferansiyasyon derecesi, LVİ, PNI, bölgesel lenf nodu ve uzak organ metastazı, cerrahi sınır durumu ve bunlara ek olarak hastaların yaşı, cinsiyeti, Vİ parametrelerinin prognostik önemini araştırdık.

Pankreas karsinomu hastalarının çoğu 55-85 yaş aralığında tanı alır (Amerika'da medyan yaş: 70) (1). Çalışmamızdaki olguların yaş ortalaması 64,4'tür (38-94 yaş aralığında). 40 yaş altında olgu literatürde çok nadir olarak bildirilmiştir (140). Bizim çalışmamızda da bir hasta 38 yaşında tanı almıştır. Li ve ark. (141) 11.138 olgudan oluşan serilerinde yaş ile kötü prognoz arasında korelasyon olduğunu saptamışlardır. Wang ve ark. (142) 126.066 pankreas kanseri olgusunda yaptıkları analiz sonucunda 40 yaş ve altında tanı alan hastalara göre 40-80 yaş arasında tanı alan hastaların mortalitesinin iki kat daha fazla olduğunu bulmuşlardır. 80 yaş ve üzerindeki

grubun, 40 yaş ve altı gruba göre 3 kat daha fazla mortaliteye sahip olduğunu belirtmişler. Birçok çalışmada ise yaş ile prognoz ve sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (143-145). Biz de çalışmamızda literatürün genelinde olduğu gibi yaş ile prognostik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

Çalışma serimizi oluşturan olguların %58'i erkek, %42'si kadındır. Pankreas karsinomunda tüm dünyada erkek/kadın oranı 1,1:1'dir (1). Bizim çalışmamızda erkek/kadın oranı 1,3/1'dir. Literatürde cinsiyet ve prognoz arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (132, 143, 146). Biz de çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak cinsiyet ile prognostik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

Pankreas karsinomları genellikle baş bölgesinde gelişir ve baş bölgesinden rezeke edilen karsinomların boyutu 2-4 cm arasındadır (ortalama: 3,5 cm). Gövde/kuyruk bölgelerinden gelişen karsinomlar genellikle biraz daha büyüktür. İki cm'den küçük kanserler nadirdir (147, 148). Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu şekilde tümör çapı ortalaması 3,15 cm'dir; en küçük tümör boyutu 1 cm, en büyük tümör boyutu 6,5 cm'dir.

Tümör T evresi tümör boyutuna göre verilmektedir. Son AJCC sınıflamasına göre T evresi: T1 (tümör boyutu ≤ 2 cm), T2 (tümör boyutu >2 cm ve ≤ 4 cm arasında), T3 (tümör boyutu >4 cm), T4 (tümör, boyutuna bakılmaksızın çölyak aksı, superior mezenterik arter ve/veya ana hepatik arter invazyonunu içerir) şeklinde sınıflandırılmaktadır (30). Çalışmamızda tüm olguları son sınıflamaya göre yeniden değerlendirdik. Buna göre 12 olgu (%13,6) T1, 58 olgu (%65,9) T2, 14 olgu (%15,9) T3 evredir. 4 olgu ise (%4,5) insizyonel biyopsi olup T evrelendirmesi yapılamadığı için Tx olarak değerlendirilmiştir. Sağkalım analizlerinde T evresiyle genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Ancak bizim vakalarımızın T evreleri arasında dengesiz dağılımı nedeniyle istatistiksel değerlendirmesi sınırlıdır.

N evresi son AJCC sınıflamasına göre (30); N0, bölgesel lenf nodu tutulumu yok, N1 1-3 bölgesel lenf nodunda metastaz, N2 ≥ 4 bölgesel lenf nodunda metastaz şeklinde sınıflandırılmıştır. Son AJCC sınıflamasına göre 26 olgu (%29,5) N0, 46 olgu (%52,3) N1, 10 olgu (%11,4) N2. Altı olguda (%6,8) lenf nodu sayısı bilinemediği için Nx olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmamızda istatistiksel olarak N evresi ile genel

sağkalım ve progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Olgularımızdan merkezimizde takip edilenlerin %40,9'unda görüntüleme yöntemleri veya biyopsi ile kanıtlanmış metastaz mevcuttur. En sık metastaz bölgesi ise karaciğerdir. Herhangi bir bölgeye metastaz saptanan hastalarda progresyonsuz sağkalım daha kısa saptanmıştır ($p<0,001$). Ayrıca metastaz bölgesi karaciğer olan 23 olguda (%26,1) progresyonsuz sağkalım daha kısa saptanmıştır ($p<0,01$). Ancak herhangi bir metastaz bulunması ile genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Nöral invazyon pankreas kanserinde yaygın olarak izlenir ve kötü prognostik göstergelerden biridir (149-151). Ancak birçok çalışmada sağkalıma bir etkisi bulunamamıştır (152). Nöral invazyon pankreas kanserinde çok sık izlenir ve %100'e yakın oranda görülebilir (153). Biz de çalışmamızda yaygın oranda (%97,6) PNİ saptadık. Çalışmamızda PNİ ile genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

Vİ ve LVİ görülmesi de kötü prognoz göstergelerindedir (151, 154). Çalışmamızdaki olgularda yaygın LVİ (%64,7) ve daha az oranda Vİ (%29,8) mevcuttur. Çalışmamızda LVİ saptanan olgularda genel sağkalım daha kısadır ($p<0,05$) ve LVİ bulunan olgularda istatistiksel olarak tümör boyutu daha büyüktür ($p=0,05$). Bu bulgu literatür bilgileri ile uyumludur. Ancak Vİ görülmesi ile genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Tek değişkenli Cox regresyon analizi sonuçlarına göre LVİ bulunan olgularda genel sağkalım 1,96 kat olumsuz etkilenmektedir. Çok değişkenli Cox regresyon analizine göre ise bağımsız risk faktörü değildir.

Tümör rezeksiyon marjini durumu prognoz göstergesi parametrelerden biridir. Strobel ve ark.(155) tümör marjin durumunun sağkalımın bağımsız bir göstergesi olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde van Roessel ve ark. (156) tümör marjininin ≥ 1 mm olmasının, 1 mm'den daha kısa olmasına göre daha iyi sağkalım ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızdaki olguların %28'inde tümör cerrahi sınırlarda devam etmektedir. Cerrahi sınırdaki tümör devam eden olgularda progresyonsuz sağkalım daha kısadır ($p<0,05$). Bu bulgu literatür bilgileri ile uyumludur.

Yapılan çalışmalarda kronik pankreatitli kişilerde pankreas kanseri riskinin önemli ölçüde arttığı saptanmıştır (157, 158). Olgu serimizin 5'inde (%5,7) pankreatit izlenmiştir. Pankreatit bulunması ile genel sağkalım veya progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu bulgunun literatürden farklı olmasının nedeni pankreatit görülen vaka sayımızın az olması ile açıklanabilir.

PDAC ana prekürsör lezyonu yüksek dereceli PanIN'dir (63). Yüksek dereceli PanIN klinik olarak potansiyel öneme sahiptir ve pankreasın başka bir bölgesinde bulunan invaziv karsinom için yol gösterici olabilir. Cerrahi sınırdaki, invaziv karsinom olmasa bile, yüksek dereceli PanIN izlenmesi durumunda hastaya ek cerrahi uygulanması gerekebilir (65, 159). Çalışmamızda literatürle uyumlu şekilde olguların %75'inde yüksek dereceli PanIN mevcuttur. Yüksek dereceli PanIN bulunması ile genel sağkalım veya progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

Çalışmamızda genel sağkalım ile en belirgin ilişki LVİ arasındadır ($p<0.05$). Progresyonsuz sağkalım ile en belirgin ilişki ise herhangi bir bölgeye metastaz ($p<0.001$), karaciğer metastazı ($p<0.01$) ve cerrahi sınır durumudur ($p<0.05$). Çok değişkenli analize göre bu parametrelerden hiçbiri bağımsız risk faktörü olarak saptanmamıştır. Kanıtlanmış bilinen diğer prognostik parametrelerin bizim çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı çıkmamasının nedeni serimizdeki grupların dengesiz dağılımı nedeniyle açıklanabilir. LVİ, lokal lenf nodu metastazı ve uzak metastaz gelişiminde rol alan bilinen kötü prognostik parametrelerden biridir. Dolayısıyla çalışmamızda LVİ bulunan olgularda daha kısa genel sağkalım ve daha büyük tümör boyutu ile ilişkisi anlamlı bulunmuştur.

Herhangi bir bölgeye metastaz, karaciğer metastazı ve cerrahi sınırdaki tümör devamlılığı; nüks ve progresyon göstergesi olarak sayılan kötü prognostik parametrelerdir. Bu nedenle çalışmamızda bu parametrelerin daha kısa progresyonsuz sağkalım ile ilişkili olmaları bunu destekler niteliktedir.

Çalışmamızda immünohistokimyasal yöntemle prognozda etkili olabileceği düşünülen MCT1, MCT4, SMAD4, vimentin, düz kas aktin, CD10 ve Ki67 ekspresyonu tümörde, yüksek dereceli PanIN alanlarında ve/veya stromada değerlendirilerek klinikopatolojik parametreler ve sağkalımlarla karşılaştırılmıştır.

Pankreas kanserlerinin büyük çoğunluğu küçük terminal (<5 mm) pankreas kanallarından kaynaklanan PanIN'den gelişir (160). Karsinogenez sırasında biriken genetik olaylar PanIN'ler için tanımlanmıştır. Erken PanIN lezyonlarında saptanan genetik olaylar, KRAS'ta telomer kısalması ve aktive edici mutasyonları içerir. Bunu izleyen dönemde CDKN2A kaybı sergilenirken yüksek dereceli PanIN; TP53, SMAD4 ve BRCA2'de inaktivasyon gösterir (69). SMAD4 inaktivasyonu, PDAC'nin yaklaşık %55'inde meydana gelir (161). SMAD4 proteini, TGF- β sinyal yoluyla hücre dışı sinyallerin yayılmasında önemli bir rol oynar. TGF- β , hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını düzenler. Bu nedenle normal hücrelerde tümör baskılayıcıdır (105). PDAC'de SMAD4 kaybı ve dolayısıyla etkilenen TGF- β sinyali, TGF- β ile indüklenen büyüme inhibisyonunun kaybıyla sonuçlanır (162). Bu da kötü prognoz ve yaygın metastaz gelişimi ile ilişkili saptanmıştır. TGF- β 'nin dokuya özgü metastaz genlerinin ekspresyonunu artırarak belirli bölgelere metastaz için önemli bir aracı görevi gördüğü ayrıca kanser hücrelerinde EMT gelişmesine neden olarak TME'de pro-anjiyogenik ve immünosupresif etkiler ile kanser progresyonunun ilerlemesine neden olduğu belirtilmiştir (105). Tascilar ve ark. (163) 249 PDAC olgusunda immünohistokimyasal inceleme ile yaptıkları çalışmada SMAD4 protein ekspresyonuna sahip pankreas adenokarsinomlu hasta sağkalımlarının önemli ölçüde daha uzun olduğunu saptamışlardır. Iacobuzio-Donahue ve ark. (164) 76 olguluk otopsi serisinde yaptıkları çalışmada SMAD4 immünohistokimyasal incelemesinde SMAD4 kaybı ile yaygın metastaz bulunması arasında korelasyon tespit etmişlerdir. Çalışmamızda literatürün geneli ile uyumlu şekilde metastaz bulunan olgularda, tümörde SMAD4 kaybı daha fazla saptanmıştır ($p < 0.05$). SMAD4 ekspresyonu ile diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Çalışmamızda SMAD4 ekspresyonunu yüksek dereceli PanIN alanlarında da değerlendirdik. Sağkalım analizleri veya diğer prognostik parametreler ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Ancak yüksek dereceli PanIN bulunan olguların tamamına yakınında (%94,5) SMAD4 ekspresyonunun tümör hücrelerinde PanIN alanına göre azalmış olduğunu gördük. Bu durum literatür verileri ile örtüşmektedir. SMAD4 molekülünün inaktivasyonu sonucunda SMAD4'e bağlı TGF- β yolu ortadan kalkarak düzensiz hücresel proliferasyon gelişir. SMAD4 kaybının gösterilmesi bu nedenle prognozu göstermede yardımcı olabilir. Nitekim tümörde SMAD4 kaybı

bulunan olgularımızda metastaz gelişiminin daha fazla olması da bunu kanıtlar niteliktedir.

EMT, epitelyal hücrelerin apikal-bazal polaritesini ve hücre-hücre yapışmasını kaybetmesi ile invaziv mezenkimal hücrelere geçiş sürecidir. EMT, embriyonik gelişim, yara iyileşmesi, metastaz ve ilaç direnci dahil olmak üzere çok sayıda biyolojik ve patolojik süreçte yer alır (5, 165, 166). Pankreas kanseri (167), mesane kanseri (168) ve meme kanserinde (169) ilaç direncine EMT'nin sıklıkla eşlik ettiği gösterilmiştir. EMT'ye maruz kalan hücreler, epitelyal genlerin (E-cadherin, okludin vb.) azalmış ekspresyonu ve mezenkimal genlerin (N-cadherin, vimentin, fibronektin vb.) artmış ekspresyonunu gösterir (170). TGF- β , EMT sürecinde yer alan anahtar sinyal yollarından biridir (171). TGF β sinyali, SMAD'a bağımlı ve SMAD'dan bağımsız yollara bölünür. SMAD'a bağlı gelişen yolda, vimentin gibi mezenkimal genlerin ekspresyonu indüklenebilir (172). Birçok fare çalışması ve hücre kültürü deneyi, karsinom hücrelerinin mezenkimal fenotip kazanarak düz kas aktin, vimentin ve desmin gibi mezenkimal belirteçleri eksprese edebildiğini göstermiştir (5). Vimentin, kanserlerde tip 3 EMT'ye maruz kalan hücreleri tanımlamak için yaygın olarak kullanılan bir belirteçtir (173, 174). Raymond ve ark. (118) 84 duktal meme karsinomu olgusu üzerine yaptıkları çalışmada vimentinin lenf nodu durumu ve histolojik derecesinden bağımsız olarak agresif davranış sergilemesi muhtemel tümörleri tanımlayabileceğini söylemişlerdir. Chouat ve ark. (175) PDAC'de vimentin aşırı ekspresyonu ile kötü prognoz göstergesi olarak bilinen tümör tomurcuklanması arasında ilişki bulmuşlardır. Wang ve ark. (119) vimentinin pozitif ekspresyonunun PDAC'de az diferansiye histoloji ile korele olduğu ve neoadjuvan tedavi alan PDAC hastalarında daha kısa hastaliksız sağkalım ve genel sağkalım için bir belirteç olduğunu tespit etmişler.

Bizim çalışmamızda LVİ bulunan olgularda vimentin pozitifliği oranı daha fazla idi. ($p < 0.05$). Vimentin ekspresyonu ile kötü prognoz gösteren parametrelerden biri olan LVİ'nin daha sık görülmesi literatür bulguları ile korelasyon göstermektedir. Vimentinin LVİ dışında diğer parametrelerle istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi saptanmadı. Vimentin EMT belirteçlerinden biridir ve dolaylı olarak prognoz göstergesi olabilir. Dolayısıyla mezenkimal fenotipi göstermede yardımcı bir antikor olan vimentinin tümör hücrelerindeki ekspresyonunun gösterilmesi, tümörün

invazivliği ve metastaz kapasitesi hakkında bilgi verme potansiyeline sahiptir. Tümör hücrelerinde fokal olarak da olsa vimentin ekspresyonu bulunan olgularımızda LVİ'nin daha fazla olması da bunu destekler niteliktedir.

TME, tümör invazyonu ve progresyonuna yardımcı faktörlerinden biri olarak tanımlanmıştır. Bu mikro ortamın içinde CAF'lar güçlü bir tümör modüle edici etkiye sahiptir ve ilaç direnci gibi alanlarda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. (9). Bu aktive fibroblastlar, düz kas aktin ekspresyonu yapmasıyla fibroblastlardan farklıdır ve tümör büyümesi ile ilerlemesini teşvik ettiği bilinmektedir (176) . Tümör mikroçevresinde miyofibroblastların sayısı çok daha yüksek olduğundan alfa düz kas aktin, CAF popülasyonlarını tanımlamak için başvuru belirtiçlerden biri haline gelmiştir (177, 178). Tsujino ve ark. (179) 192 kolorektal karsinom olgu serilerinde düz kas aktin pozitif fibroblast miktarının fazla olmasının genel sağkalımı kısalttığını göstermişlerdir. Benzer şekilde Surowiak ve ark. (10) 45 olguluk serilerinde miyofibroblastlardan zengin tümörlerin daha yüksek dereceli tümör ve daha düşük genel sağkalımla ilişkili olduğunu saptamışlardır. Maehira ve ark (180) 67 adet pankreas tümör rezeksiyon olgusundan oluşan çalışmalarında immünohistokimyasal ve dual immünofloresan boyama ile vimentin ve düz kas aktin ekspresyonu analiz etmişlerdir. Daha yüksek vimentin ekspresyonu gösteren PDAC olgularında daha kısa sağkalım saptamışlardır. Düz kas aktin ekspresyonu göstermeyen ancak vimentin pozitif olan CAF'lar daha zayıf sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. Bizim çalışmamızda düz kas aktin pozitif CAF olarak değerlendirilen hücre varlığı ile prognostik parametreler, progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım arasında ilişkili bulunamamıştır.

ECM'de CAF'ların yanında TAM'lar mevcuttur. Genel olarak, TAM'lar PDAC'de tümörün oluşması, progresyonu ve metastazında kilit rol oynar (11). CAF ve TAM yoğunluğunda artış; ileri klinik evre, yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi ve tümörde düşük diferansiyasyon derecesi ile ilişkili bulunmuştur (181). CD10, peritümöral fibroblast benzeri stromal hücrelerde eksprese edilir ve bu hücreler birçok kanserde invazyonda rol oynar (182). CD10 pozitif stromal hücrelerin bir miyofibroblast grubuna ait olduğu ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (12). Ancak tümör hücrelerinde CD10 ekspresyonunun klinik önemi değişken sonuçlar göstermektedir. Terauchi ve ark. (183) CD10 ekspresyonunu servikal

karsinomda olumlu bir prognostik faktör olarak bulmuşlardır. Buna zıt bir şekilde birçok farklı tümörde ekspresyonu olumsuz bir prognostik parametre olarak saptanmıştır (184). Stromal CD10 ekspresyonuna baktığımızda Louhichi ve ark. (185) 133 invaziv meme karsinomundan oluşan serilerinde lenf nodu metastazı bulunan olgularda daha fazla stromal CD10 pozitifliği olduğunu ve stromal CD10 pozitif olguların daha yüksek dereceli tümörler olduğunu saptamışlardır. Huang ve ark. (12) 112 gastrik karsinom olgusunda yaptıkları immünohistokimyasal incelemede stromal CD10 ekspresyonunu tümör invazyon derinliği, lenf nodu metastazı ve damar invazyonu ile ilişkili saptamışlardır. Ogawa ve ark. (14) 169 kolorektal epitelyal karsinom olgusu üzerine yaptıkları çalışmada CD10 stromal pozitifliğinin daha büyük tümör boyutu ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Ikenaga ve ark. (186) CD10 pozitif pankreatik satellit hücrelerinin ekspresyonunun lenf nodu metastazı ve daha kısa sağkalım ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır.

Çalışmamızda CD10 tümör ekspresyonu ile stromal TAM ekspresyonunu inceledik. Ancak klinikopatolojik parametreler ve sağkalım analizleri ile CD10 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Bu sonuçlar, olgu sayımızın az olması nedeniyle kısıtlı değerlendirilmiştir. Kesin sonucun aydınlatılabilmesi için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır. Bazı olgularda tümöre ait glandlarda yalnızca lüminal CD10 boyanması dikkati çekti. CD10 lüminal boyanma olmayan olgularda progresyonsuz sağkalım daha kısa idi ($p \cong 0,05$). Bu bulgunun bundan sonraki çalışmalarda da araştırılarak prognostik öneminin ortaya konması gerekmektedir.

Ki67 ekspresyon seviyesi hücre proliferasyonunun durumunu gösterir. Yapılan klinik çalışmalar, Ki67'nin kanser teşhisi için bir araç olarak kullanılabileceğini göstermiştir (23). Ki67, çoğu malign hücrede yüksek oranda eksprese edilmesi nedeniyle terapötik hedef olarak önerilmiştir (187). Ki67, malign tümörlerde potansiyel bir prognostik belirteç olarak da geniş çapta araştırılmıştır (188). Rioux-Leclercq ve ark. (189) 73 olguluk renal hücreli karsinomdan oluşan çalışmalarında Ki67 indeksinin yüksek olmasının kötü prognozla ilişkili olduğunu saptamışlardır. Visapää ve ark. (190) yine renal hücreli karsinomlarda yaptıkları çalışmada Ki67 proliferasyon indeksinin yüksek olmasının hastalıksız sağkalımla

ilişkili olduğunu saptamışlardır. Ibrahim ve ark. (191) 145 meme karsinomu olgusundan oluşan çalışmalarında Ki67 proliferasyon indeksi %20'nin altında olan hastalarda belirgin şekilde uzun post rekürrens sağkalımı saptamışlardır. Ki67 indeksi, prostat kanseri hastaları için bağımsız bir prognostik faktör olarak belirtilmiştir (192). Hu ve ark. (193) pankreas kanseri üzerine yaptıkları çalışmada Ki-67 ekspresyonunu patolojik derece, lenf nodu metastazı ve klinik evre ile korele saptamışlardır. Pankreatikodudenektomi uygulanmış ve tümör yerleşimi pankreasın baş kısmında bulunan 134 hasta üzerine yaptıkları çalışmada Hohyun ve ark. (194) Ki-67 ekspresyonunu patolojik derece, lenf nodu metastazı ve klinik evre ile korele saptamışlardır. Ayrıca Ki-67'yi hem tek değişkenli hem de çok değişkenli analizlerde 1 yıl içinde postoperatif nüks için bağımsız bir öngörücü faktör olarak tespit etmişlerdir. Bu bulgular Ki67'nin pankreas kanseri için prognostik bir parametre olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Bizim çalışmamızda da literatür bulgularıyla uyumlu şekilde LVI bulunan olgularda Ki67 oranları daha yüksek olarak saptanmıştır ($p<0,01$). Ki67 ekspresyonu ile genel sağkalım karşılaştırıldığında %50'nin üzerinde saptanan grup ile %50 ve altında saptanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,01$). Ki67>%50 olan olgularda sağkalım belirgin şekilde daha kısadır. Bu bulgular Ki67'nin prognoz açısından yol gösterici olduğunu kanıtlar niteliktedir.

Ki67 ekspresyonunu değerlendirilirken sağkalım analizinde cut-off değeri olarak %50 oranını kullandık. Genel sağkalımı, Ki67 proliferasyon indeksi >%50 olan grupta anlamlı şekilde daha kısa saptadık. Dolayısıyla Ki67 proliferasyon indeksi için cut-off değeri olarak %50 kullanılabilmesini öneriyoruz. Bu konuda yapılacak daha fazla vaka serilerinden oluşan çalışmalar ile saptanacak cut-off değeri veya değerleri ile Ki67 proliferasyon indeksi PDAC'de prognozu göstermede yardımcı bir antikor olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olabilir.

Tümörlerde yüksek glikolitik hız ile ilişkili olarak glikozun laktata dönüşümü artarak ekstraselüler alana salınan laktik asit üretimi gerçekleşir. Laktik asit hidrofilik ve zayıf bir asit olduğu için membranlar arası taşınımı MCT ailesi tarafından yapılır. MCT1, MCT2 ve MCT4 ekspresyonu; kanser hücre dizilerinde ve hastalardan alınan birçok tümör tipinde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (90). MCT1 eksprese eden

oksidatif kanser hücrelerinin, MCT4 eksprese eden glikolitik kanser hücreleri tarafından salgılanan laktatı alma yeteneğine sahip olduğu ilk olarak 2008'de tariflenmiştir (195). Şimdiye kadar yapılmış çalışmalarda birçok farklı tümörde MCT1 ve MCT4 ekspresyonlarının genelde kötü prognoz ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Yapılan hücre hattı çalışmalarında MCT1 ve benzer şekilde MCT4 inhibisyonunun migrasyon ve invazyonu engellediği saptanmıştır (90). Pinheiro ve ark. (196) 126 kolorektal karsinom olgusu üzerine yaptıkları çalışmada MCT1 ekspresyonunu LVİ ile direk korele olarak saptamışlardır. Pinheiro ve ark. (197) 154 adrenokortikal karsinom olgusundan oluşan çalışmalarında MCT1 ekspresyonunun yüksek nükleer derece, yüksek mitotik indeks, ileri tümör evresi, metastaz varlığı gibi kötü prognostik parametrelerle birlikte kısalmış genel sağkalım ve kısalmış progresyonsuz sağkalım ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Zhang ve ark. (198) 124 mesane kanseri olgusundan oluşan çalışmalarında MCT1 ekspresyonunu lenf nodu metastazı ve uzak metastaz ile korele saptamışlar, ayrıca MCT1 ekspresyonunun kısalmış genel sağkalımla da ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Alves ve ark. (199) otopsilerden elde edilen 188 primer karaciğer tümörü olgusuna uyguladıkları immünohistokimyasal incelemede MCT4 ekspresyonunun Ki67 ekspresyonu ile kuvvetli şekilde korele olduğunu saptamışlardır. Doyen ve ark. (200) meme tümörlerinde yaptıkları bir çalışmada MCT4 ekspresyonunu, metastazsız sağkalım için güçlü bir gösterge olarak tespit etmişlerdir. Abe ve ark. (201) kolorektal karsinom olgularında MCT4 ekspresyonunun, tümör progresyonu ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Pértega-Gomes ve ark. (202) 171 prostat karsinomu vakasından oluşan çalışmalarında MCT4 ekspresyonu ile yüksek PSA değerleri, yüksek Gleason skoru, ileri pT evresi, PNI varlığı ve rekürrens gelişiminin ilişkili olduğunu saptamışlardır. MCT1 ekspresyonunu prostat karsinomu alanlarında, normal dokuya oranla artmış olarak tespit etmişler ancak prognostik parametreler ile anlamlı ilişki bulamamışlardır. Choi ve ark. (203) 360 mesane tümörü olgusundan oluşan çalışmalarında tümörde MCT1 ve MCT4 ekspresyonunun kısalmış genel sağkalım ve rekürrensiz sağkalım ile ilişkili bağımsız parametreler olduğunu saptamışlardır.

Çalışmamızda MCT1 ve MCT4 ekspresyonlarını değerlendirirken negatif ve zayıf pozitif olgular ile orta derecede pozitif ve kuvvetli pozitif olgular şeklinde iki ayrı gruba ayırarak değerlendirdik. Ayrıca tümördeki ekspresyon yüzdeleri ve

ekspresyon kuvvetleri için ayrı olarak değerlendirme yaptık. MCT1'in tümördeki ekspresyon oranı yüksek olan grupta genel sağkalım anlamlı şekilde daha kısalmış olarak saptandı ($p<0.05$). MCT1'in tümördeki ekspresyon kuvveti yüksek olan grupta tümör boyutunu belirgin şekilde daha büyük olarak saptadık ($p=0,013$). Bu bulgular literatür bulguları ile genel olarak uyumluluk göstermektedir. MCT1 ekspresyonu ile diğer prognostik parametreler ve progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. MCT1 ekspresyonu prognoz göstergesi olabileceği gibi hedefe yönelik tedaviler açısından da araştırılmalıdır.

MCT4 tümör ekspresyonu ile herhangi bir prognostik parametre, genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Bu bulgu literatür bulguları ile farklılık göstermektedir. Ayrıca MCT1 ve MCT4 ekspresyonlarını yüksek dereceli PanIN alanlarında da değerlendirdik. Ancak bu alanlarda MCT1 ve MCT4 ekspresyonlarının, sağkalım analizleri veya diğer prognostik parametreler ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

Tümör metabolizması nedeniyle artmış glikoz tüketimi sonucunda artan hücre içi laktat, hücreler arası matrikse MCT'ler aracılığıyla taşınmaktadır. TME'de artan laktat kötü prognoz ile ilişkilendirilmiş olması nedeniyle tümör agresifliğinin bir göstergesidir. Tümörde MCT1 ekspresyon artışı, stromaya taşınan laktat miktarının arttığını göstermektedir. Dolayısıyla MCT1 ekspresyonunun artması, dolaylı yoldan tümördeki yüksek metabolik aktiviteyi ve tümör agresifliğini göstermektedir. Bu nedenle MCT1'in tümördeki ekspresyonunun fazla olmasının daha büyük tümör boyutu ve daha kısa sağkalım ile ilişkili olması şaşırtıcı değildir.

Literatürde PADC'de ve diğer birçok kanser türünde tümör mikroçevresi, laktat metabolizması ve epitelyal mezankimal geçiş ile ilgili çok sayıda immünohistokimyasal inceleme tabanlı çalışma yapılmıştır. Bildiğimiz kadarıyla bütün bu bahsettiğimiz antikörler bir arada çalışılarak daha önce PDAC'de incelenmemiştir.

Çalışmamız sonucunda genel olarak literatür ile uyumlu bulgular elde etsek de vaka dağılımımızın düzensiz olmasından dolayı sonuçlarda bazı kısıtlamalar mevcuttur. Daha fazla vaka ile çalışma yapılarak prognostik parametreler açısından aydınlanma sağlanmasına ihtiyaç vardır. Yine daha fazla vaka ile yapılacak ileri

alışmalar sonucunda yeni tedavi ajanlarının geliştirilmesi, oldukça ktu prognoza sahip olan PDAC’de sağkalımın iyileştirilmesini sağlayabilir.

SONUÇLAR

- 1- PDAC’de LVİ bulunması genel sağkalımı kısaltmaktadır ($p<0,05$).
- 2- PDAC’de herhangi bir bölgeye metastaz ve karaciğer metastazı, progresyonsuz sağkalımı kısaltmaktadır (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,01$).
- 3- PDAC’de cerrahi sınırdaki tümörün devamlılık progresyonsuz sağkalımı kısaltmaktadır (sırasıyla $p<0,05$).
- 4- PDAC’de tümörde yüksek oranda MCT1 ekspresyonu genel sağkalım için bağımsız bir prognostik belirteçtir ($p<0,01$).
- 5- PDAC’de tümörde şiddetli MCT1 ekspresyonu daha büyük tümör boyutu ile ilişkilidir ($p<0,05$).
- 6- PDAC’de LVİ bulunan olgularda vimentin pozitifliği daha fazladır ($p<0,05$).
- 7- PDAC’de metastaz bulunan olgularda SMAD4 kaybı daha fazladır ($p<0,05$).
- 8- PDAC’de Ki67 proliferasyon indeksinin %50’nin üzerinde olması genel sağkalımı kısaltmaktadır ($p<0,01$).
- 9- PDAC’de LVİ bulunan olgularda Ki67 proliferasyon indeksi daha yüksektir($p<0,01$).
- 10- LVİ bulunan olgularda tümör boyutu daha büyüktür ($p=0,05$).
- 11- Sonuç olarak, çalışmamızda PDAC’de MCT1 ve vimentinin artmış ekspresyonu, SMAD4 kaybı ve yüksek Ki67 proliferasyon indeksi PDAC’de kötü prognoz ile ilişkili olduğu yorumlanmıştır.

KAYNAKÇA

1. Lokuhetty D., White V. A., Watanabe R., Cree I. A. World Health Organization & International Agency for Research on Cancer. (2019). Digestive system tumours (Fifth). International Agency for Research on Cancer; 296-332.
2. Yamada S, Fuchs BC, Fujii T, Shimoyama Y, Sugimoto H, Nomoto S, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition predicts prognosis of pancreatic cancer. *Surgery*. 2013;154(5):946-54.
3. Nieto MA, Huang RY, Jackson RA, Thiery JP. EMT: 2016. *Cell*. 2016;166(1):21-45.
4. Kalluri R. EMT: when epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells. *The Journal of clinical investigation*. 2009;119(6):1417-9.
5. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *The Journal of clinical investigation*. 2009;119(6):1420-8.
6. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
7. Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T. The tumor microenvironment at a glance. *Journal of cell science*. 2012;125(Pt 23):5591-6.
8. Alkasalias T, Moyano-Galceran L, Arsenian-Henriksson M, Lehti K. Fibroblasts in the Tumor Microenvironment: Shield or Spear? *International journal of molecular sciences*. 2018;19(5).
9. Nurmik M, Ullmann P, Rodriguez F, Haan S, Letellier E. In search of definitions: Cancer-associated fibroblasts and their markers. *International journal of cancer*. 2020;146(4):895-905.
10. Surowiak P, Murawa D, Materna V, Maciejczyk A, Pudelko M, Ciesla S, et al. Occurrence of stromal myofibroblasts in the invasive ductal breast cancer tissue is an unfavourable prognostic factor. *Anticancer research*. 2007;27(4c):2917-24.
11. Huang X, He C, Lin G, Lu L, Xing K, Hua X, et al. Induced CD10 expression during monocyte-to-macrophage differentiation identifies a unique subset of macrophages in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Biochemical and biophysical research communications*. 2020;524(4):1064-71.
12. Huang WB, Zhou XJ, Chen JY, Zhang LH, Meng K, Ma HH, et al. CD10-positive stromal cells in gastric carcinoma: correlation with invasion and metastasis. *Japanese journal of clinical oncology*. 2005;35(5):245-50.
13. Makretsov NA, Hayes M, Carter BA, Dabiri S, Gilks CB, Huntsman DG. Stromal CD10 expression in invasive breast carcinoma correlates with poor prognosis, estrogen receptor negativity, and high grade. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2007;20(1):84-9.
14. Ogawa H, Iwaya K, Izumi M, Kuroda M, Serizawa H, Koyanagi Y, et al. Expression of CD10 by stromal cells during colorectal tumor development. *Human pathology*. 2002;33(8):806-11.

15. Krzemień S, Knapczyk P. [Current review on the role of transforming growth factor beta (TGF-beta) in some pathological disorders]. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*. 2005;58(9-10):536-9.
16. Subramanian G, Schwarz RE, Higgins L, McEnroe G, Chakravarty S, Dugar S, et al. Targeting endogenous transforming growth factor beta receptor signaling in SMAD4-deficient human pancreatic carcinoma cells inhibits their invasive phenotype1. *Cancer research*. 2004;64(15):5200-11.
17. Garcia-Carracedo D, Yu CC, Akhavan N, Fine SA, Schönleben F, Maehara N, et al. Smad4 loss synergizes with TGF α overexpression in promoting pancreatic metaplasia, PanIN development, and fibrosis. *PloS one*. 2015;10(3):e0120851.
18. Végran F, Boidot R, Michiels C, Sonveaux P, Feron O. Lactate influx through the endothelial cell monocarboxylate transporter MCT1 supports an NF- κ B/IL-8 pathway that drives tumor angiogenesis. *Cancer research*. 2011;71(7):2550-60.
19. Singer K, Gottfried E, Kreutz M, Mackensen A. Suppression of T-cell responses by tumor metabolites. *Cancer immunology, immunotherapy : CII*. 2011;60(3):425-31.
20. Pinheiro C, Longatto-Filho A, Azevedo-Silva J, Casal M, Schmitt FC, Baltazar F. Role of monocarboxylate transporters in human cancers: state of the art. *Journal of bioenergetics and biomembranes*. 2012;44(1):127-39.
21. Kong SC, Nøhr-Nielsen A, Zeeberg K, Reshkin SJ, Hoffmann EK, Novak I, et al. Monocarboxylate Transporters MCT1 and MCT4 Regulate Migration and Invasion of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cells. *Pancreas*. 2016;45(7):1036-47.
22. Sukeda A, Nakamura Y, Nishida Y, Kojima M, Gotohda N, Akimoto T, et al. Expression of Monocarboxylate Transporter 1 Is Associated With Better Prognosis and Reduced Nodal Metastasis in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pancreas*. 2019;48(8):1102-10.
23. Yang C, Zhang J, Ding M, Xu K, Li L, Mao L, et al. Ki67 targeted strategies for cancer therapy. *Clinical & translational oncology : official publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*. 2018;20(5):570-5.
24. Henry BM, Skinningsrud B, Saganiak K, Pękala PA, Walocha JA, Tomaszewski KA. Development of the human pancreas and its vasculature - An integrated review covering anatomical, embryological, histological, and molecular aspects. *Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft*. 2019;221:115-24.
25. Mills S. *Histology for Pathologists*: Wolters Kluwer Health; 2019: 1702-1775.
26. Paulsen F, Waschke J. *Sobotta atlas of human anatomy. Internal Organs, 16th edition, English version with Latin nomenclature / ed. Munich: Elsevier; 2018:176-187.*
27. Ovalle WK, Nahirney PC. *Netter's Essential Histology E-Book: With Correlated Histopathology*: Elsevier Health Sciences; 2020:352-357.

28. Drake RL, Vogl AW, Mitchell AWM. Gray's Basic Anatomy E-Book: Elsevier Health Sciences; 2016:169-171.
29. Cui D. Atlas of histology with functional and clinical correlations. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2011:315-317.
30. Amin, Mahul B., Stephen B. Edge, and Frederick L. Greene. AJCC Cancer Staging Manual. 2017:337-345.
31. Fitzgerald TL, Hickner ZJ, Schmitz M, Kort EJ. Changing incidence of pancreatic neoplasms: a 16-year review of statewide tumor registry. *Pancreas*. 2008;37(2):134-8.
32. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(3):209-49.
33. Ferlay J, Partensky C, Bray F. More deaths from pancreatic cancer than breast cancer in the EU by 2017. *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)*. 2016;55(9-10):1158-60.
34. Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, Rosenzweig AB, Fleshman JM, Matrisian LM. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer research*. 2014;74(11):2913-21.
35. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2021. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(1):7-33.
36. Iodice S, Gandini S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Tobacco and the risk of pancreatic cancer: a review and meta-analysis. *Langenbeck's archives of surgery*. 2008;393(4):535-45.
37. Genkinger JM, Kitahara CM, Bernstein L, Berrington de Gonzalez A, Brotzman M, Elena JW, et al. Central adiposity, obesity during early adulthood, and pancreatic cancer mortality in a pooled analysis of cohort studies. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2015;26(11):2257-66.
38. Jiao L, Chen L, White DL, Tinker L, Chlebowski RT, Van Horn LV, et al. Low-fat Dietary Pattern and Pancreatic Cancer Risk in the Women's Health Initiative Dietary Modification Randomized Controlled Trial. *Journal of the National Cancer Institute*. 2018;110(1):49-56.
39. Koushik A, Spiegelman D, Albanes D, Anderson KE, Bernstein L, van den Brandt PA, et al. Intake of Fruits and Vegetables and Risk of Pancreatic Cancer in a Pooled Analysis of 14 Cohort Studies. *American Journal of Epidemiology*. 2012;176(5):373-86.
40. Stolzenberg-Solomon RZ, Schairer C, Moore S, Hollenbeck A, Silverman DT. Lifetime adiposity and risk of pancreatic cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study cohort. *The American journal of clinical nutrition*. 2013;98(4):1057-65.
41. Farris MS, Mosli MH, McFadden AA, Friedenreich CM, Brenner DR. The Association between Leisure Time Physical Activity and Pancreatic Cancer Risk

- in Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology.* 2015;24(10):1462-73.
42. Genkinger JM, Spiegelman D, Anderson KE, Bergkvist L, Bernstein L, van den Brandt PA, et al. Alcohol intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of fourteen cohort studies. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology.* 2009;18(3):765-76.
 43. Gupta S, Wang F, Holly EA, Bracci PM. Risk of pancreatic cancer by alcohol dose, duration, and pattern of consumption, including binge drinking: a population-based study. *Cancer causes & control : CCC.* 2010;21(7):1047-59.
 44. Bang UC, Benfield T, Hyldstrup L, Bendtsen F, Beck Jensen JE. Mortality, cancer, and comorbidities associated with chronic pancreatitis: a Danish nationwide matched-cohort study. *Gastroenterology.* 2014;146(4):989-94.
 45. Yadav D, Lowenfels AB. The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology.* 2013;144(6):1252-61.
 46. Wolpin BM, Chan AT, Hartge P, Chanock SJ, Kraft P, Hunter DJ, et al. ABO blood group and the risk of pancreatic cancer. *Journal of the National Cancer Institute.* 2009;101(6):424-31.
 47. Mills, Stacey E. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology [6th Ed.]*. Wolters Kluwer Health, 2015:4379-4454.
 48. Hruban, Ralph H., Martha Bishop Pitman, and David S. Klimstra. *Tumors of the Pancreas*. Washington: American Registry of Pathology, 2007.
 49. Ackerman, Lauren V., John R. Goldblum, Laura W. Lamps, Jesse K. McKenney, Jeffrey L. Myers, and Juan Rosai. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 2018: 886-904.
 50. Hruban RH, Fukushima N. Pancreatic adenocarcinoma: update on the surgical pathology of carcinomas of ductal origin and PanINs. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2007;20 Suppl 1:S61-70.
 51. Kosmahl M, Pauser U, Anlauf M, Klöppel G. Pancreatic ductal adenocarcinomas with cystic features: neither rare nor uniform. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2005;18(9):1157-64.
 52. Adsay V, Logani S, Sarkar F, Crissman J, Vaitkevicius V. Foamy gland pattern of pancreatic ductal adenocarcinoma: a deceptively benign-appearing variant. *The American journal of surgical pathology.* 2000;24(4):493-504.
 53. Lüttges J, Vogel I, Menke M, Henne-Bruns D, Kremer B, Klöppel G. Clear cell carcinoma of the pancreas: an adenocarcinoma with ductal phenotype. *Histopathology.* 1998;32(5):444-8.
 54. Chaffee KG, Oberg AL, McWilliams RR, Majithia N, Allen BA, Kidd J, et al. Prevalence of germ-line mutations in cancer genes among pancreatic cancer

- patients with a positive family history. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2018;20(1):119-27.
55. Petersen GM. Familial pancreatic cancer. *Seminars in oncology*. 2016;43(5):548-53.
 56. Klein AP. Genetic susceptibility to pancreatic cancer. *Molecular carcinogenesis*. 2012;51(1):14-24.
 57. 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;531(7592):47-52.
 58. Biankin AV, Biankin SA, Kench JG, Morey AL, Lee CS, Head DR, et al. Aberrant p16(INK4A) and DPC4/Smad4 expression in intraductal papillary mucinous tumours of the pancreas is associated with invasive ductal adenocarcinoma. *Gut*. 2002;50(6):861-8.
 59. Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer cell*. 2017;32(2):185-203.e13.
 60. Bryant KL, Mancias JD, Kimmelman AC, Der CJ. KRAS: feeding pancreatic cancer proliferation. *Trends in biochemical sciences*. 2014;39(2):91-100.
 61. Lowery MA, Wong W, Jordan EJ, Lee JW, Kemel Y, Vijai J, et al. Prospective Evaluation of Germline Alterations in Patients With Exocrine Pancreatic Neoplasms. *Journal of the National Cancer Institute*. 2018;110(10):1067-74.
 62. Waddell N, Pajic M, Patch A-M, Chang DK, Kassahn KS, Bailey P, et al. Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer. *Nature*. 2015;518(7540):495-501.
 63. Andea A, Sarkar F, Adsay VN. Clinicopathological Correlates of Pancreatic Intraepithelial Neoplasia: A Comparative Analysis of 82 Cases With and 152 Cases Without Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Modern Pathology*. 2003;16(10):996-1006.
 64. Mihaljevic AL, Michalski CW, Friess H, Kleeff J. Molecular mechanism of pancreatic cancer--understanding proliferation, invasion, and metastasis. *Langenbeck's archives of surgery*. 2010;395(4):295-308.
 65. Basturk O, Hong SM, 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.
 66. Hruban RH, Takaori K, Klimstra DS, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Biankin AV, et al. An illustrated consensus on the classification of pancreatic intraepithelial neoplasia and intraductal papillary mucinous neoplasms. *The American journal of surgical pathology*. 2004;28(8):977-87.
 67. Maitra A, Adsay NV, Argani P, Iacobuzio-Donahue C, De Marzo A, Cameron JL, et al. Multicomponent analysis of the pancreatic adenocarcinoma progression model using a pancreatic intraepithelial neoplasia tissue microarray. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2003;16(9):902-12.

68. Hosoda W, Chianchiano P, Griffin JF, Pittman ME, Brosens LA, Noë M, et al. Genetic analyses of isolated high-grade pancreatic intraepithelial neoplasia (HG-PanIN) reveal paucity of alterations in TP53 and SMAD4. *The Journal of pathology*. 2017;242(1):16-23.
69. Maitra A, Fukushima N, Takaori K, Hruban RH. Precursors to invasive pancreatic cancer. *Advances in anatomic pathology*. 2005;12(2):81-91.
70. van Heek NT, Meeker AK, Kern SE, Yeo CJ, Lillemoe KD, Cameron JL, et al. Telomere shortening is nearly universal in pancreatic intraepithelial neoplasia. *The American journal of pathology*. 2002;161(5):1541-7.
71. Hezel AF, Kimmelman AC, Stanger BZ, Bardeesy N, Depinho RA. Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genes & development*. 2006;20(10):1218-49.
72. Preis M, Korc M. Signaling pathways in pancreatic cancer. *Critical reviews in eukaryotic gene expression*. 2011;21(2):115-29.
73. Kleeff J, Korc M, Apte M, La Vecchia C, Johnson CD, Biankin AV, et al. Pancreatic cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016;2(1):16022.
74. Sahai E, Astsaturov I, Cukierman E, DeNardo DG, Egeblad M, Evans RM, et al. A framework for advancing our understanding of cancer-associated fibroblasts. *Nature reviews Cancer*. 2020;20(3):174-86.
75. Ngwa VM, Edwards DN, Philip M, Chen J. Microenvironmental Metabolism Regulates Antitumor Immunity. *Cancer research*. 2019;79(16):4003-8.
76. Kleeff J, Korc M, Apte M, La Vecchia C, Johnson CD, Biankin AV, et al. Pancreatic cancer. *Nature reviews Disease primers*. 2016;2:16022.
77. Brooks GA. The Science and Translation of Lactate Shuttle Theory. *Cell metabolism*. 2018;27(4):757-85.
78. Parks SK, Pouysségur J. Targeting pH regulating proteins for cancer therapy-Progress and limitations. *Seminars in cancer biology*. 2017;43:66-73.
79. Sun S, Li H, Chen J, Qian Q. Lactic Acid: No Longer an Inert and End-Product of Glycolysis. *Physiology (Bethesda, Md)*. 2017;32(6):453-63.
80. San-Millán I, Brooks GA. Reexamining cancer metabolism: lactate production for carcinogenesis could be the purpose and explanation of the Warburg Effect. *Carcinogenesis*. 2017;38(2):119-33.
81. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*. 2009;139(5):871-90.
82. Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Developmental cell*. 2008;14(6):818-29.
83. Hamidi S, Sheng G. Epithelial-mesenchymal transition in haematopoietic stem cell development and homeostasis. *The Journal of Biochemistry*. 2018;164(4):265-75.

84. Zhou P, Li B, Liu F, Zhang M, Wang Q, Liu Y, et al. The epithelial to mesenchymal transition (EMT) and cancer stem cells: implication for treatment resistance in pancreatic cancer. *Molecular cancer*. 2017;16(1):52.
85. Nieto MA, Cano A. The epithelial-mesenchymal transition under control: global programs to regulate epithelial plasticity. *Seminars in cancer biology*. 2012;22(5-6):361-8.
86. Valcourt U, Kowanetz M, Niimi H, Heldin CH, Moustakas A. TGF-beta and the Smad signaling pathway support transcriptomic reprogramming during epithelial-mesenchymal cell transition. *Molecular biology of the cell*. 2005;16(4):1987-2002.
87. Iwatsuki M, Mimori K, Yokobori T, Ishi H, Beppu T, Nakamori S, et al. Epithelial-mesenchymal transition in cancer development and its clinical significance. *Cancer science*. 2010;101(2):293-9.
88. Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, et al. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer research*. 2007;67(3):1030-7.
89. Walenta S, Snyder S, Haroon ZA, Braun RD, Amin K, Brizel D, et al. Tissue gradients of energy metabolites mirror oxygen tension gradients in a rat mammary carcinoma model. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2001;51(3):840-8.
90. Payen VL, Mina E, Van Hée VF, Porporato PE, Sonveaux P. Monocarboxylate transporters in cancer. *Molecular metabolism*. 2020;33:48-66.
91. Halestrap AP, Wilson MC. The monocarboxylate transporter family--role and regulation. *IUBMB life*. 2012;64(2):109-19.
92. Van Rymenant E, Abrankó L, Tumova S, Grootaert C, Van Camp J, Williamson G, et al. Chronic exposure to short-chain fatty acids modulates transport and metabolism of microbiome-derived phenolics in human intestinal cells. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2017;39:156-68.
93. Stanley WC, Gertz EW, Wisneski JA, Neese RA, Morris DL, Brooks GA. Lactate extraction during net lactate release in legs of humans during exercise. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1986;60(4):1116-20.
94. Garcia CK, Goldstein JL, Pathak RK, Anderson RG, Brown MS. Molecular characterization of a membrane transporter for lactate, pyruvate, and other monocarboxylates: implications for the Cori cycle. *Cell*. 1994;76(5):865-73.
95. Halestrap AP. The monocarboxylate transporter family--Structure and functional characterization. *IUBMB life*. 2012;64(1):1-9.
96. Pérez-Escuredo J, Van Hée VF, Sboarina M, Falces J, Payen VL, Pellerin L, et al. Monocarboxylate transporters in the brain and in cancer. *Biochimica et biophysica acta*. 2016;1863(10):2481-97.
97. Manning Fox JE, Meredith D, Halestrap AP. Characterisation of human monocarboxylate transporter 4 substantiates its role in lactic acid efflux from skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2000;529 Pt 2(Pt 2):285-93.

98. Derynck R, Gelbart WM, Harland RM, Heldin CH, Kern SE, Massagué J, et al. Nomenclature: vertebrate mediators of TGFbeta family signals. *Cell*. 1996;87(2):173.
99. Wrana JL. The secret life of Smad4. *Cell*. 2009;136(1):13-4.
100. McCarthy AJ, Chetty R. Smad4/DPC4. *Journal of clinical pathology*. 2018;71(8):661-4.
101. Xia X, Wu W, Huang C, Cen G, Jiang T, Cao J, et al. SMAD4 and its role in pancreatic cancer. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2015;36(1):111-9.
102. Saiki Y, Horii A. Molecular pathology of pancreatic cancer. *Pathology international*. 2014;64(1):10-9.
103. Furukawa T, Sunamura M, Horii A. Molecular mechanisms of pancreatic carcinogenesis. *Cancer science*. 2006;97(1):1-7.
104. Xu J, Attisano L. Mutations in the tumor suppressors Smad2 and Smad4 inactivate transforming growth factor beta signaling by targeting Smads to the ubiquitin-proteasome pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000;97(9):4820-5.
105. Siegel PM, Massagué J. Cytostatic and apoptotic actions of TGF-beta in homeostasis and cancer. *Nature reviews Cancer*. 2003;3(11):807-21.
106. Wilentz RE, Iacobuzio-Donahue CA, Argani P, McCarthy DM, Parsons JL, Yeo CJ, et al. Loss of expression of Dpc4 in pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence that DPC4 inactivation occurs late in neoplastic progression. *Cancer research*. 2000;60(7):2002-6.
107. Blackford A, Serrano OK, Wolfgang CL, Parmigiani G, Jones S, Zhang X, et al. SMAD4 gene mutations are associated with poor prognosis in pancreatic cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2009;15(14):4674-9.
108. Anggorowati N, Ratna Kurniasari C, Damayanti K, Cahyanti T, Widodo I, Ghozali A, et al. Histochemical and Immunohistochemical Study of α -SMA, Collagen, and PCNA in Epithelial Ovarian Neoplasm. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2017;18(3):667-71.
109. Cherng S, Young J, Ma H. Alpha-smooth muscle actin (α -SMA). *J Am Sci*. 2008;4.
110. Shinde AV, Humeres C, Frangogiannis NG. The role of α -smooth muscle actin in fibroblast-mediated matrix contraction and remodeling. *Biochimica et biophysica acta Molecular basis of disease*. 2017;1863(1):298-309.
111. Grotendorst GR, Rahmanie H, Duncan MR. Combinatorial signaling pathways determine fibroblast proliferation and myofibroblast differentiation. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2004;18(3):469-79.

112. Rao KB, Malathi N, Narashiman S, Rajan ST. Evaluation of myofibroblasts by expression of alpha smooth muscle actin: a marker in fibrosis, dysplasia and carcinoma. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*. 2014;8(4):Zc14-7.
113. Enescu A, Enescu A, Florou C, Petrescu F. E-cadherin and α -SMA expression in the epithelial-mesenchymal transition of salivary glands pleomorphic adenomas. *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie*. 2014;55(4):1383-7.
114. Lee ES, Leong AS, Kim YS, Lee JH, Kim I, Ahn GH, et al. Calretinin, CD34, and alpha-smooth muscle actin in the identification of peritoneal invasive implants of serous borderline tumors of the ovary. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2006;19(3):364-72.
115. Satelli A, Li S. Vimentin in cancer and its potential as a molecular target for cancer therapy. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2011;68(18):3033-46.
116. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nature reviews Cancer*. 2002;2(6):442-54.
117. Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *The Journal of clinical investigation*. 2009;119(6):1429-37.
118. Raymond WA, Leong AS. Vimentin--a new prognostic parameter in breast carcinoma? *The Journal of pathology*. 1989;158(2):107-14.
119. Wang M, Estrella JS, Katz MH, Kim M, Rashid A, Lee JE, et al. Expression of Epithelial-Mesenchymal Transition Markers in Treated Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pancreas*. 2019;48(10):1367-72.
120. Malfroy B, Kuang WJ, Seeburg PH, Mason AJ, Schofield PR. Molecular cloning and amino acid sequence of human enkephalinase (neutral endopeptidase). *FEBS letters*. 1988;229(1):206-10.
121. Lu T-X, Miao Y, Wu J-Z, Gong Q-X, Liang J-H, Wang Z, et al. The distinct clinical features and prognosis of the CD10+MUM1+ and CD10-Bcl6-MUM1-diffuse large B-cell lymphoma. *Scientific reports*. 2016;6:20465.
122. Maguer-Satta V, Besancon R, Bachelard-Cascales E. Concise Review: Neutral Endopeptidase (CD10): A Multifaceted Environment Actor in Stem Cells, Physiological Mechanisms, and Cancer. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 2011;29:389-96.
123. Komohara Y, Takeya M. CAFs and TAMs: maestros of the tumour microenvironment. *The Journal of pathology*. 2017;241(3):313-5.
124. Sobecki M, Mrouj K, Colinge J, Gerbe F, Jay P, Krasinska L, et al. Cell-Cycle Regulation Accounts for Variability in Ki-67 Expression Levels. *Cancer research*. 2017;77(10):2722-34.
125. Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M. Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2005;23(28):7212-20.

126. Menon SS, Guruvayoorappan C, Sakthivel KM, Rasmi RR. Ki-67 protein as a tumour proliferation marker. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2019;491:39-45.
127. Pergolini I, Crippa S, Pagnanelli M, Belfiori G, Pucci A, Partelli S, et al. Prognostic impact of Ki-67 proliferative index in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. *BJS open*. 2019;3(5):646-55.
128. Khalaf N, El-Serag HB, Abrams HR, Thrift AP. Burden of Pancreatic Cancer: From Epidemiology to Practice. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2021;19(5):876-84.
129. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye Kanser İstatistikleri, Ankara. 2017.
130. Krejs GJJd. Pancreatic cancer: epidemiology and risk factors. 2010;28(2):355-8.
131. 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.
132. 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.
133. Takai S, Satoi S, Toyokawa H, Yanagimoto H, Sugimoto N, Tsuji K, et al. Clinicopathologic evaluation after resection for ductal adenocarcinoma of the pancreas: a retrospective, single-institution experience. *Pancreas*. 2003;26(3):243-9.
134. Kure S, Kaneko T, Takeda S, Inoue S, Nakao A. Analysis of long-term survivors after surgical resection for invasive pancreatic cancer. *HPB : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association*. 2005;7(2):129-34.
135. Voong KR, Davison J, Pawlik TM, Uy MO, Hsu CC, Winter J, et al. Resected pancreatic adenosquamous carcinoma: clinicopathologic review and evaluation of adjuvant chemotherapy and radiation in 38 patients. *Human pathology*. 2010;41(1):113-22.
136. Kim L, Liao J, Zhang M, Talamonti M, Bentrem D, Rao S, et al. Clear cell carcinoma of the pancreas: histopathologic features and a unique biomarker: hepatocyte nuclear factor-1beta. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2008;21(9):1075-83.
137. Klimstra DS. Noductal neoplasms of the pancreas. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2007;20 Suppl 1:S94-112.
138. Klimstra DS, Heffess CS, Oertel JE, Rosai J. Acinar cell carcinoma of the pancreas. A clinicopathologic study of 28 cases. *The American journal of surgical pathology*. 1992;16(9):815-37.

139. Sierzega M, Popiela T, Kulig J, Nowak K. The ratio of metastatic/resected lymph nodes is an independent prognostic factor in patients with node-positive pancreatic head cancer. *Pancreas*. 2006;33(3):240-5.
140. 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.
141. 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. *Pancreatolology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al]. 2018;18(1):133-8.
142. Wang H, Liu J, Xia G, Lei S, Huang X, Huang X. Survival of pancreatic cancer patients is negatively correlated with age at diagnosis: a population-based retrospective study. *Scientific reports*. 2020;10:7048.
143. 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):4183-94.
144. 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):76197-213.
145. Ahola R, Siiki A, Vasama K, Vornane M, Sand J, Laukkarinen 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. *Pancreatolology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al]. 2017;17.
146. Ahola R, Siiki A, Vasama K, Vornanen M, Sand J, Laukkarinen 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. *Pancreatolology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al]. 2017;17(5):822-6.
147. He J, Ahuja N, Makary MA, Cameron JL, Eckhauser FE, Choti MA, et al. 2564 resected periampullary adenocarcinomas at a single institution: trends over three decades. *HPB : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association*. 2014;16(1):83-90.
148. Schlitter AM, Jesinghaus M, Jäger C, Konukiewitz B, Muckenhuber A, Demir IE, et al. pT but not pN stage of the 8th TNM classification significantly improves prognostication in pancreatic ductal adenocarcinoma. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2017;84:121-9.
149. Nakao A, Harada A, Nonami T, Kaneko T, Takagi H. Clinical significance of carcinoma invasion of the extrapancreatic nerve plexus in pancreatic cancer. *Pancreas*. 1996;12(4):357-61.
150. Mitsunaga S, Hasebe T, Kinoshita T, Konishi M, Takahashi S, Gotohda N, et al. Detail histologic analysis of nerve plexus invasion in invasive ductal carcinoma

- of the pancreas and its prognostic impact. *The American journal of surgical pathology*. 2007;31(11):1636-44.
151. Ozaki H, Hiraoka T, Mizumoto R, Matsuno S, Matsumoto Y, Nakayama T, et al. The prognostic significance of lymph node metastasis and intrapancreatic perineural invasion in pancreatic cancer after curative resection. *Surgery today*. 1999;29(1):16-22.
 152. 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;26(1):105-15.
 153. 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):900-7; discussion 7-8.
 154. Hong SM, Goggins M, Wolfgang CL, Schulick RD, Edil BH, Cameron JL, et al. Vascular invasion in infiltrating ductal adenocarcinoma of the pancreas can mimic pancreatic intraepithelial neoplasia: a histopathologic study of 209 cases. *The American journal of surgical pathology*. 2012;36(2):235-41.
 155. Strobel O, Hank T, Hinz U, Bergmann F, Schneider L, Springfield C, et al. Pancreatic Cancer Surgery: The New R-status Counts. *Annals of surgery*. 2017;265(3):565-73.
 156. van Roessel S, Kasumova GG, Tabatabaie O, Ng SC, van Rijssen LB, Verheij J, et al. Pathological Margin Clearance and Survival After Pancreaticoduodenectomy in a US and European Pancreatic Center. *Annals of surgical oncology*. 2018;25(6):1760-7.
 157. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, Ammann RW, Lankisch PG, Andersen JR, et al. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group. *The New England journal of medicine*. 1993;328(20):1433-7.
 158. Yadav D, Lowenfels AB. The Epidemiology of Pancreatitis and Pancreatic Cancer. *Gastroenterology*. 2013;144(6):1252-61.
 159. Adsay V, Mino-Kenudson M, Furukawa T, Basturk O, Zamboni G, Marchegiani G, et al. Pathologic Evaluation and Reporting of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas and Other Tumoral Intraepithelial Neoplasms of Pancreatobiliary Tract: Recommendations of Verona Consensus Meeting. *Annals of surgery*. 2016;263(1):162-77.
 160. Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Compton C, Garrett ES, Goodman SN, et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *The American journal of surgical pathology*. 2001;25(5):579-86.
 161. Hahn SA, Schutte M, Hoque AT, Moskaluk CA, da Costa LT, Rozenblum E, et al. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science (New York, NY)*. 1996;271(5247):350-3.

162. Dai JL, Bansal RK, Kern SE. G1 cell cycle arrest and apoptosis induction by nuclear Smad4/Dpc4: phenotypes reversed by a tumorigenic mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999;96(4):1427-32.
163. Tascilar M, Skinner HG, Rosty C, Sohn T, Wilentz RE, Offerhaus GJ, et al. The SMAD4 protein and prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2001;7(12):4115-21.
164. Iacobuzio-Donahue CA, Fu B, Yachida S, Luo M, Abe H, Henderson CM, et al. DPC4 gene status of the primary carcinoma correlates with patterns of failure in patients with pancreatic cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2009;27(11):1806-13.
165. Hay ED. An overview of epithelio-mesenchymal transformation. *Acta anatomica*. 1995;154(1):8-20.
166. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Current opinion in cell biology*. 2003;15(6):740-6.
167. Arumugam T, Ramachandran V, Fournier KF, Wang H, Marquis L, Abbruzzese JL, et al. Epithelial to mesenchymal transition contributes to drug resistance in pancreatic cancer. *Cancer research*. 2009;69(14):5820-8.
168. McConkey DJ, Choi W, Marquis L, Martin F, Williams MB, Shah J, et al. Role of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in drug sensitivity and metastasis in bladder cancer. *Cancer metastasis reviews*. 2009;28(3-4):335-44.
169. Huang J, Li H, Ren G. Epithelial-mesenchymal transition and drug resistance in breast cancer (Review). *International journal of oncology*. 2015;47(3):840-8.
170. Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2014;15(3):178-96.
171. Gonzalez DM, Medici D. Signaling mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition. *Science signaling*. 2014;7(344):re8.
172. Kaimori A, Potter J, Kaimori JY, Wang C, Mezey E, Koteish A. Transforming growth factor-beta1 induces an epithelial-to-mesenchymal transition state in mouse hepatocytes in vitro. *The Journal of biological chemistry*. 2007;282(30):22089-101.
173. Yang J, Mani SA, Donaher JL, Ramaswamy S, Itzykson RA, Come C, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell*. 2004;117(7):927-39.
174. Boyer B, Tucker GC, Vallés AM, Gavrilovic J, Thiery JP. Reversible transition towards a fibroblastic phenotype in a rat carcinoma cell line. *International journal of cancer Supplement = Journal international du cancer Supplement*. 1989;4:69-75.
175. Chouat E, Zehani A, Chelly I, Njima M, Maghrebi H, Bani MA, et al. Tumor budding is a prognostic factor linked to epithelial mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma. Study report and literature review.

Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP) [et al]. 2018;18(1):79-84.

176. Augsten M. Cancer-associated fibroblasts as another polarized cell type of the tumor microenvironment. *Frontiers in oncology*. 2014;4:62.
177. Mezawa Y, Orimo A. The roles of tumor- and metastasis-promoting carcinoma-associated fibroblasts in human carcinomas. *Cell and tissue research*. 2016;365(3):675-89.
178. Gascard P, Tlsty TD. Carcinoma-associated fibroblasts: orchestrating the composition of malignancy. *Genes & development*. 2016;30(9):1002-19.
179. Tsujino T, Seshimo I, Yamamoto H, Ngan CY, Ezumi K, Takemasa I, et al. Stromal myofibroblasts predict disease recurrence for colorectal cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2007;13(7):2082-90.
180. Maehira H, Miyake T, Iida H, Tokuda A, Mori H, Yasukawa D, et al. Vimentin Expression in Tumor Microenvironment Predicts Survival in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Heterogeneity in Fibroblast Population. *Annals of surgical oncology*. 2019;26(13):4791-804.
181. Hashimoto O, Yoshida M, Koma Y, Yanai T, Hasegawa D, Kosaka Y, et al. Collaboration of cancer-associated fibroblasts and tumour-associated macrophages for neuroblastoma development. *The Journal of pathology*. 2016;240(2):211-23.
182. Jang TJ. Epithelial to mesenchymal transition in cutaneous squamous cell carcinoma is correlated with COX-2 expression but not with the presence of stromal macrophages or CD10-expressing cells. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2012;460(5):481-7.
183. Terauchi M, Kajiyama H, Shibata K, Ino K, Mizutani S, Kikkawa F. Anti-progressive effect of neutral endopeptidase 24.11 (NEP/CD10) on cervical carcinoma in vitro and in vivo. *Oncology*. 2005;69(1):52-62.
184. Mishra D, Singh S, Narayan G. Role of B Cell Development Marker CD10 in Cancer Progression and Prognosis. *Molecular biology international*. 2016;2016:4328697.
185. Louhichi T, Saad H, Dhiab MB, Ziadi S, Trimeche M. Stromal CD10 expression in breast cancer correlates with tumor invasion and cancer stem cell phenotype. *BMC Cancer*. 2018;18(1):49.
186. Ikenaga N, Ohuchida K, Mizumoto K, Cui L, Kayashima T, Morimatsu K, et al. CD10+ pancreatic stellate cells enhance the progression of pancreatic cancer. *Gastroenterology*. 2010;139(3):1041-51, 51.e1-8.
187. Li LT, Jiang G, Chen Q, Zheng JN. Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer (review). *Molecular medicine reports*. 2015;11(3):1566-72.
188. Yang C, Zhang J, Ding M, Xu K, Li L, Mao L, et al. Ki67 targeted strategies for cancer therapy. *Clinical and Translational Oncology*. 2018;20(5):570-5.

189. Rioux-Leclercq N, Turlin B, Bansard J, Patard J, Manunta A, Moulinoux JP, et al. Value of immunohistochemical Ki-67 and p53 determinations as predictive factors of outcome in renal cell carcinoma. *Urology*. 2000;55(4):501-5.
190. Visapää H, Bui M, Huang Y, Seligson D, Tsai H, Pantuck A, et al. Correlation of Ki-67 and gelsolin expression to clinical outcome in renal clear cell carcinoma. *Urology*. 2003;61(4):845-50.
191. Ibrahim T, Farolfi A, Scarpi E, Mercatali L, Medri L, Ricci M, et al. Hormonal receptor, human epidermal growth factor receptor-2, and Ki67 discordance between primary breast cancer and paired metastases: clinical impact. *Oncology*. 2013;84(3):150-7.
192. Nagao K, Yamamoto Y, Hara T, Komatsu H, Inoue R, Matsuda K, et al. Ki67 and BUBR1 may discriminate clinically insignificant prostate cancer in the PSA range <4 ng/ml. *Japanese journal of clinical oncology*. 2011;41(4):555-64.
193. Hu HY, Liu H, Zhang JW, Hu K, Lin Y. Clinical significance of Smac and Ki-67 expression in pancreatic cancer. *Hepato-gastroenterology*. 2012;59(120):2640-3.
194. Kim H, Park CY, Lee JH, Kim JC, Cho CK, Kim HJ. Ki-67 and p53 expression as a predictive marker for early postoperative recurrence in pancreatic head cancer. *Annals of surgical treatment and research*. 2015;88(4):200-7.
195. Sonveaux P, Végran F, Schroeder T, Wergin MC, Verrax J, Rabbani ZN, et al. Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2008;118(12):3930-42.
196. Pinheiro C, Longatto-Filho A, Scapulatempo C, Ferreira L, Martins S, Pellerin L, et al. Increased expression of monocarboxylate transporters 1, 2, and 4 in colorectal carcinomas. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2008;452(2):139-46.
197. Pinheiro C, Granja S, Longatto-Filho A, Faria AM, Fragoso MC, Lovisolato SM, et al. Metabolic reprogramming: a new relevant pathway in adult adrenocortical tumors. *Oncotarget*. 2015;6(42):44403-21.
198. Zhang G, Zhang Y, Dong D, Wang F, Ma X, Guan F, et al. MCT1 regulates aggressive and metabolic phenotypes in bladder cancer. *Journal of Cancer*. 2018;9(14):2492-501.
199. Alves VA, Pinheiro C, Morais-Santos F, Felipe-Silva A, Longatto-Filho A, Baltazar F. Characterization of monocarboxylate transporter activity in hepatocellular carcinoma. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(33):11780-7.
200. Doyen J, Trastour C, Ettore F, Peyrottes I, Toussant N, Gal J, et al. Expression of the hypoxia-inducible monocarboxylate transporter MCT4 is increased in triple negative breast cancer and correlates independently with clinical outcome. *Biochemical and biophysical research communications*. 2014;451(1):54-61.
201. Abe Y, Nakayama Y, Katsuki T, Inoue Y, Minagawa N, Torigoe T, et al. The prognostic significance of the expression of monocarboxylate transporter 4 in patients with right- or left-sided colorectal cancer. *Asia-Pacific journal of clinical oncology*. 2019;15(2):e49-e55.

202. Pérttega-Gomes N, Vizcaíno JR, Miranda-Gonçalves V, Pinheiro C, Silva J, Pereira H, et al. Monocarboxylate transporter 4 (MCT4) and CD147 overexpression is associated with poor prognosis in prostate cancer. *BMC Cancer*. 2011;11:312.
203. Choi JW, Kim Y, Lee JH, Kim YS. Prognostic significance of lactate/proton symporters MCT1, MCT4, and their chaperone CD147 expressions in urothelial carcinoma of the bladder. *Urology*. 2014;84(1):245.e9-15.