ARAŞTIRMA MAKALESİ / *Research Article*

Yüksek Snail ekspresyonu Kolorektal Kanser Kökenli Karaciğer Metaztaslarında Rezeksiyon Sonrası Nüksü Yansıtır

High SNAIL Expression Reflects Of Recurrence After Resection Colorectal Cancer Liver Metastasis

Ahmet Karamustafaoğlu[1], Seçil Ak Aksoy[2], Berrin Tunca[3], Melis Erçelik[3], Çağla Tekin[3], Nesrin Uğraş4, Ömer Yerci[4], Fuat Aksoy[1], Ekrem Kaya[1]

[1]Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye
[2]Bursa Uludağ Üniversitesi, İnegö Meslek Yüksek Okulu, Bursa, Türkiye
[3]Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye
[4]Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Yazışma Adresi / *Correspondence:*
Ekrem Kaya
, Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi, Nilüfer, Bursa
T: **+90 380 542 13 90** E-mail **: ekremkaya@uludag.edu.tr**

Geliş Tarihi / Received : **14.06.2022** Kabul Tarihi / Accepted: **12.12.20222** Çevrimiçi / Online: **30.12.2022**

Orcid ve Mail Adresleri

Ahmet Karamustafaoğlu https://orcid.org/0000-0003-4987-334X, drakmo1987@gmail.com
Seçil Ak Aksoy https://orcid.org/0000-0002-3760-9755, ak.secil08@gmail.com
Berrin Tunca https://orcid.org/0000-0002-1619-6680, btunca@uludag.edu.tr
Melis Erçelik https://orcid.org/0000-0003-0366-2424, melismutlu95@gmail.com
Çağla Tekin https://orcid.org/0000-0002-2568-3667, tekincagla9@gmail.com
Nesrin Uğraş https://orcid.org/0000-0003-0127-548X, nesrin.ugras@gmail.com
Ömer Yerci https://orcid.org/0000-0001-7118-5258, yerci@uludag.edu.tr
Fuat Aksoy https://orcid.org/0000-0001-5808-9384, drfuataksoy@gmail.com
Ekrem Kaya https://orcid.org/0000-0002-9562-4195, ekremkaya@uludag.edu.tr

Karamustafaoğlu A, Ak Aksoy S, Tunca B, Erçelik M, Tekin Ç, et al. Yüksek Snail ekspresyonu Kolorektal Kanser Kökenli Karaciğer Metaztaslarında Rezeksiyon Sonrası Nüksü Yansıtır, Sakarya Tıp Dergisi 2022 ;12(4): 672-679 DOI: 10.31832/smj.1128434

Öz

Amaç	Cerrahi tedavi, primer kolorektal kanserden (KRK) gelişen karaciğer metastazları için etkili tedavi yöntemlerinden biridir. Bununla birlikte metastazektomi sonrası nüks bu kanserlerdeki en büyük problemdir. Mevcut çalışmada, primer KRK'lardan gelişen karaciğer metastazlarında Epitelyal-Mezenkimal Tranzisyon (EMT)'nin metastazektomi sonrası nüks gelişimindeki rolünün incelenmesi amaçlanmıştır.
Gereç ve Yöntemler	Çalışmada, 85 hasta ve 12 normal kolon dokusu değerlendirildi. Hastalara ait arşiv materyali tümör ve normal dokularından RNA izolasyonları yapıldı. qRT-PCR kullanılarak 7 farklı EMT belirtecinin ekspresyon profili incelendi.
Bulgular	Seksen beş KRK'nın %24.7 (n=21)'sinde karaciğere metastazı gelişti. Karaciğer metastazı belirlenen hastaların %42.3'ünde (n=9) metastazektomi sonrası nüks gözlendi. Primer KRK'dan mKK gelişiminde EMT belirteçlerinden TWIST ve SNAIL ekspresyonlarında istatistiksel olarak anlamlı artış belirlendi ($p<0.05$). Cerrahi tedavi sonrası nüks eden mKK'larda ise EMT belirteçlerinden sadece SNAIL ekspresyonunda nüks etmeyen karaciğer dokularına göre nüks eden grupta istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdi ($p<0.0001$).
Sonuç	Çalışma sonucunda, yüksek SNAIL ekspresyonuna sahip primer KRK tümörlerinin takip süresi içerisinde mKK geliştireceğini ve bu vakalara metastazektomi yapılmasına rağmen sonrasında nüks oluşabileceği öngörülmektedir.
Anahtar kelimeler	Metastazektomi; metastatik karaciğer kanserleri; Epitelyal-Mezenkimal Tranzisyon

Abstract

Objective	*Metastasectomy is one of the effective treatment methods for liver metastases developing from primary colorectal cancer (CRC). However, recurrence after metastasectomy is the biggest problem in these cancers. The present study aimed to examine the role of Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) in the development of recurrence after metastasectomy in liver metastases from primary CRCs.*
Materials and Methods	*In the study, 85 patients were evaluated. RNA was isolated from archive tumors and normal tissues of the patients. Expression profiles of 7 different EMT markers were examined using qRT-PCR.*
Results	*Metastasis to the liver developed in 24.7% (n=21) of 85 CRC. Recurrence was observed in 42.3% (n=9) of liver metastases after metastasectomy. Statistically significant increases were detected in the expression of EMT markers TWIST and SNAIL in the development of mCC in primary CRC ($p<0.05$). On the other hand, in recurrent mCCs after metastasectomy, only SNAIL expression, one of the EMT markers, showed a statistically significant increase in the relapsed group compared to non-relapsed liver tissues ($p<0.0001$).*
Conclusion	*As a result of the study, it is predicted that primary CRC tumors with high SNAIL expression will develop mCC within the follow-up period, and recurrence may occur after metastasectomy in these cases.*
Key words	*Metastasectomy; metastatic liver cancers; Epithelial-Mesenchymal Transition*

Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial No Derivatives 4.0 International License

GİRİŞ

Olorektal kanser (KRK), dünya genelinde kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir.[1] Karaciğer KRK'ların en sık rastlanılan metastaz bölgesidir ve karaciğer metastazları bu hastalık için başlıca mortalite sebebidir. Bu vakalarda genel sağkalımın 36 aydan kısa olduğu belirtilmektedir.[2,3] KRK'ların yaklaşık %35-55' inde senkron ya da metakron karaciğer metastazı (metastatik karaciğer kanserleri; mKK) gelişmektedir. Bu olgularda bir cerrahi tedavi olan metastazektomi, mKK hastalarında en etkili tedavi yöntemidir. Ancak uygulanan bu cerrahi tedavi sonrası hastaların yaklaşık %50-70' inde nüks oluşabilmektedir. Ayrıca bu hastalarda 5 yıllık sağkalım %25-50 oranındadır.[4] Klinikte, primer tümöre ait lenf nodu durumu, karaciğerdeki lezyon sayısı, preoperative karsinoembriyonik antijen (CEA) seviyesi, mKK hastalarında bu kötü prognozu belirlemede önerilen parametrelerdir. Tıp alanında son dönemde elde edilen tüm gelişmelere rağmen metastaz gelişiminin öngörülmesinde kullanılabilecek biyobelirteçler tanımlanmamıştır.[5]

Epitelyal-Mezenkimal Tranzisyon (EMT) son yıllarda özellikle epitel kaynaklı tümörlerin metastaz oluşumunda etkili mekanizmalardan biri olarak görülmektedir. EMT'nin; PI3K, AKT, mTOR, RAS, MYC, HIF1, TGFB ve TP53 gibi birçok genetik ve epigenetik sinyal yolağını kullanarak, mKK oluşumunda görev aldığı savunulmaktadır.[6] Bu mekanizma, normal dokuda,embriyogenez ve yara iyileşmesi sırasında epitelyal hücrelerin mezenkimal fenotip kazandığı biyolojik bir süreç olarak kabul edilmektedir. Kanser gelişiminde ise, tümör hücreleri metastaz sürecinde bu mekanizmayı kullanarak, hücre-hücre adezyonu ve polariteyi de içeren farklılaşmış epitel özelliklerini kaybetmekte, migrasyon ve invazyon kapasitesi artmış, ekstraselüler matriks bileşenlerini fazla miktarda üreten ve apoptoza direnç gösteren kanser kök hücre yeteneklerine sahip mezenkimal hücre özellikleri kazanmaktadırlar.[7] EMT sürecine giren hücreler zaman içerisinde kan damarlarına ulaşarak dolaşıma girebilmekte ve uzak organlara ulaşabilmektedirler. Uzak organa ulaşan hücreler tekrar epitelyal hücre özelliklerine dönerek metastaz sürecini tamamlamaktadırlar.[8] Primer kolorektal tümörlerin karaciğere yaptıkları uzak organ metastazını bu model üzerinden gerçekleştirdikleri düşünülmektedir. Ancak literatürde mKK tümörlerinde EMT çalışmaları daha çok in-vitro deneyler ile gösterilmekte olup hasta tabanlı araştırma sayısı sınırlıdır.[9-11] EMT' nin metastazektomi sonrası nüks üzerine etkisi henüz bilinmemektedir.

Günümüzde mKK'larda nüksün öngörülmesinde kullanılabilecek klinik ya da moleküler bir belirteç bulunmamaktadır. Bu nedenle, mevcut çalışmada, cerrahi tedavi sonrası mKK nüksünde, metastaz ile ilişkili temel mekanizma olarak kabul edilen EMT mekanizmasının etkisinin araştırılması amaçlandı. Böylece mKK tümörlerinin kötü prognozunda EMT'nin biyobelirteç olarak kullanılabilabilirliği analiz edilecek ve bu mekanizmanın hedeflenmesine yönelik yeni tedavi seçeneklerinin araştırmalara katkı sağlanacaktır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Hasta Seçimi

Çalışmada, sporadik KRK tanısı almış 85 hasta retrospektif olarak değerlendirildi. 12 normal kolon doku kontrol olarak kullanıldı. Neadjuvan tedavi alan, beş yıldan az takip süresine sahip, primer KRK olmayan veya ailesinde kanser öyküsü bulunan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya ait etik kurul Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi klinik araştırmalar etik kurulu tarafından onay (Karar no: 2019-6/35) alındı. Ameliyat sonrası hastalığın tekrarlaması olarak tanımlanan nüks ve metastaz varlığını tespit etmek için hastaların, tanı sonrası en az 5 yıllık süre ile kayıtları incelendi. Nüks oluşumuna kadar geçen süre hastalıksız sağkalım olarak ifade edildi.

RNA İzolasyonu ve RT-PCR Analizi

Ameliyat sonrası çıkartılarak formalin ile fikse edilip parafin içerisine gömdürülen ve patolog tarafından değerlendirilen dokular patoloji arşivinden temin edildi. Normal ve tümör doku olarak tanımlanmış hastaya ait parafin

blok için ependorf tüpler oluşturuldu ve parafin bloklardan 0.2-0.4 cm kesilerek bu tüpler içerisine alındı. Materyaller, BIOstic (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA) ile 2 kez muamele edilerek parafinden arındırıldı. BIOstic ile doku üzerindeki parafin çözdürüldükten sonra materyaller, %100-%70 ve %40' lık alkol serilerinden geçirilerek BIOstic uzaklaştırıldı. Bu aşamalardan sonra 85 hastaya ait tümör doku ve 12 normal kolon, 8 normal karaciğer dokunun RNA izolasyonuna uygun ticari kit (Qiagen RNeasy FFPE kit) protolokü doğrultusunda total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen total RNA örneklerinden 5 ng'lık ara stoklar oluşturuldu ve ProtoScript M-MuLV First Stand cDNA Synthesis Kit kullanılarak komplementer DNA (cDNA) sentezi gerçekleştirildi. Tablo 1'de verilen EMT belirteçlerinin mRNA düzeyindei ekspresyon profilleri Abi Step One Plus cihazında analiz edildi (Tablo 1). Kontrol geni olarak GAPDH kullanıldı.

Tablo 1. Analiz edilen EMT belirteç genleri ve Hs numaraları

EMT Genleri	Primer Numarları
VIMENTIN	Hs00418522_m1
E-Kaderin	Hs01013959_m1
N-Kaderin	Hs00983056_m1
TWIST	Hs01675818_s1
SNAIL	Hs_00195591_m1
SLUG	Hs00161904_m1
MMP-9	Hs00957562_m1
GAPDH	Hs02786624_g1

İstatistiksel Analiz

Hastalara ait klinik ve patolojik özelliklerin nükse olan etkileri Bağımsız T test, Ki-kare ve Tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) kullanılarak belirlendi. mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişimleri inceleyebilmek için öncelikle Abi Step One Plus cihazının veri tabandan, yüklenen örneklerin Row Data ve CT değerleri elde edildi. Web tabanlı Sabiosciences PCR-Data Analiz (RT2 profiler PCR array data analysis version 3.5) programından yararlanılarak, mRNA ekspresyon düzeyindeki değişimleri ifade eden kat değişimi (fold change) grafikleri oluşturuldu. Sabiosciences PCR- Data Analiz sisteminde2 ΔCt değerlerinden Student T testi yapılarak her bir mRNA' nın p değeri belirlendi. Tüm analizler için 0.05'ten küçük p değerleri %95 güven aralığında (confidence interval; CI) anlamlı kabul edildi. Tanı anından nükse kadar geçen süre hastalıksız sağkalım (Disease free survival; DFS) olarak tanımlandı ve değerlendirilen tüm parametrelerin DFS' ye olan etkileri Kaplan Meier Analizi ile belirlendi. Tüm istatistiksel analizlerde SPSS (20.0) ve Graphpad Prism 6.0 programlarından yararlanıldı. Parametrelerin DFS' ye olan etkilerinin değerlendirildiği Kaplan Meier analizi MedCalc 16.0 programı ile gerçekleştirildi.

BULGULAR

Hasta Özellikleri

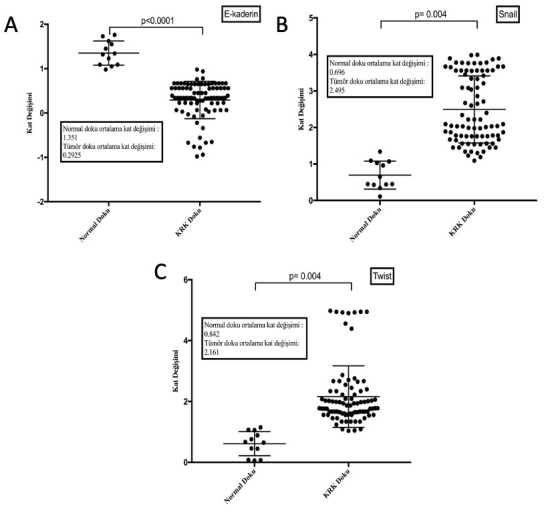
Mevcut çalışmada 38' i (%44,70) erkek, 47' si (%55,30) kadın olmak üzere 85 hasta değerlendirildi. Primer tümör lokalizasyonunun 16 (%18.8) vakada rektumda, 69 (%81,20) vakada ise kolonda lokalize olduğu saptandı. Takip süresi içerisinde 21 (%24,70) hastada karaciğer metastazı geliştiği belirlendi. Değerlendirilen hastaların klinik ve patolojik özellikleri Tablo 2' de gösterildi.

Tablo 2. Hastalara ait klinik özellikler

Parametreler	**Hasta Sayısı (%)**	**Parametreler**	**Hasta Sayısı (%)**
Yaş		**Müsinöz Kompanent**	
30-40	4 (%4.7)	Yok	64 (%75.3)
40-50	33 (%38.8)	Var	21 (%24.7)
50-60	25 (29.4)	**Tümör Lokalizasyonu**	
60-70	23 (%27.1)	Kolon	69 (%81.2)
Cinsiyet		Rektum	16 (%18.8)
Kadın	47 (%55.3)	**Evre**	
Erkek	38 (%44.7)	I	4 (%4.7)
Tümör Çapı		II	16 (%18.8)
<3	36 (%42.4)	III	60 (%70.6)
≥3	49 (%57.6)	IV	5 (%5.9)
Lenf Nodu Metastazı		**Metastaz Durumu***	
Yok	49 (%57.6)	Yok	64 (%75.3)
Var	36 (%42.4)	Var	21 (%24.7)

Kolon Kanser Dokularında EMT

KRK'dan karaciğer metastaz oluşum sürecinde EMT mekanizmasını incelemek için VIMENTIN, E-Kaderin, N-Kaderin, TWIST, SNAIL, SLUG ve MMP-9 mRNA'larına ait ekspresyon profilleri değerlendirildi. İlk olarak 12 normal kolon dokusu ile 85 KRK dokusunda bu genlerin aktivasyonları mRNA düzeyinde incelendi. KRK dokularında normal dokulara kıyasla istatiksel olarak anlamlı bir şekilde E-Kaderin ekspresyon seviyesinin azaldığı (4,3-kat; p=0,001), TWIST (2.6-kat; p=0.005) ve SNAIL (3.9-kat; p=0.004) genlerinin ekspresyon seviyesinin arttığı saptandı (Şekil 1). Ancak VIMENTIN (p=0.0585), N-Kaderin (p=0.062), SLUG (p=0.059) ve MMP-9 (p=0,076) genlerinin ekspresyon seviyelerinde istatiksel olarak anlamlı bir değişim belirlenmedi. EMT belirteçlerinin normal kolon dokusuna göre tümör dokularındaki ekspresyon profilleri Tablo 3'te verildi.



Şekil 1. Normal doku ile karşılaştırıldığında KRK dokularında istatistiksel olarak anlamlı ekspresyon değişimi gösteren (A) E-Kaderin, (B) SNAIL ve (C) TWIST ekspresyonları.

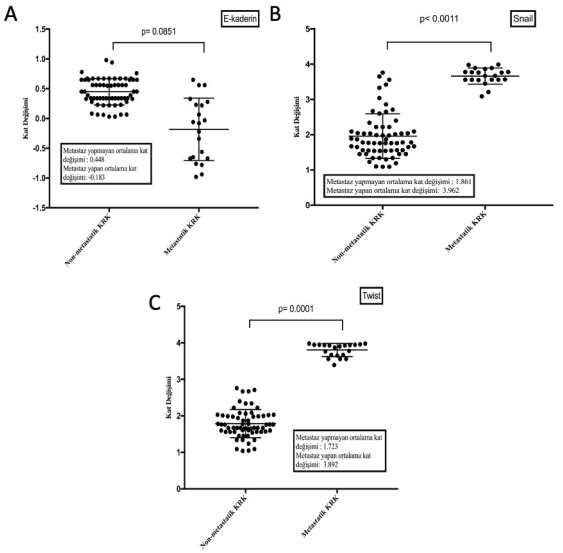
Tablo 3. Normal doku ile karşılaştırıldığında KRK tümörlerinde EMT belirteçlerinin ekspresyon profilleri.

mRNA	2^(-Avg.(Delta(Ct))		Kat Değişimi	P Değeri
	Normal Doku	KRK Doku		
VİMENTİN	0.076	0.164	2,1	0.058
E-CADHERİN	0.192	0.045	4,3	0.001
N-CADHERİN	0.025	0.031	1,2	0.062
TWİST	0.067	0.173	2,6	0.046
SNAİL	0.021	0.082	3,9	0.004
SLUG	0.037	0.044	1,2	0.059
MMP-9	0.021	0.034	1,6	0.076

RT2 profiler PCR dizi veri analizi bağımsız örnek T-testi ve SPSS 'de ki-kare testi ile değerlendirilmiştir.*p < 0.05'ten küçük değerler kalın harf ile yazılmıştır.

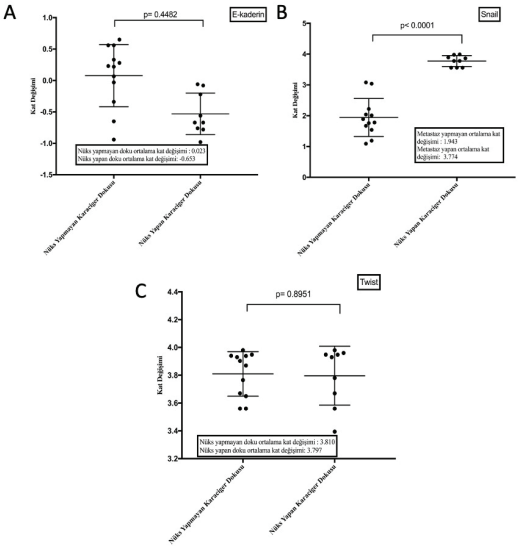
Metastazektomi Sonrası Nüks Gelişiminde EMT

Normal doku ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunan EMT belirteçlerinden E-Kaderin, TWIST ve SNAIL'in metastazektomi sonrası nüks gelişimindeki rolleri incelendi. Öncelikle takip süresi içerisinde mKK gelişimi gösteren KRK dokuları (n=21), mKK gelişimi göstermeyen KRK dokuları ile karşılaştırıldığında (n=64), E-Kaderin ekspresyon seviyesinde bir değişim belirlenmezken, mKK gelişimi belirlenen primer tümör dokularında TWIST 2.3-kat, SNAIL ise 2.1-kat artış gösterdi (p<0.05). Bu genlere ait ekspresyon değişim grafikleri Şekil 2'de gösterildi.



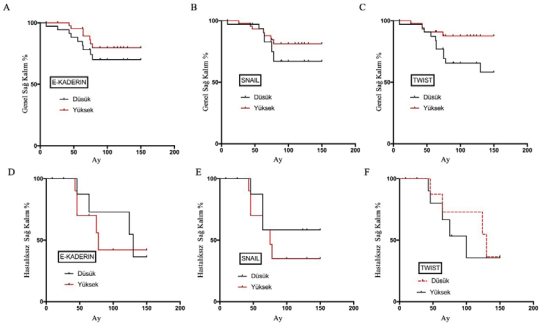
Şekil 2: Takip süresi içerisinde karaciğer metastazı belirlenen (n=21) ve belirlenmeyen (n=64) KRK tümörlerinde (A) E-Kaderin, (B) SNAIL, ve (C) TWIST mRNA ekspresyon profilleri.

Bununla birlikte hastaların primer kolon tümörleri metastazektomi sonras nüks durumuna göre de metastatik karaciğer tümörleri (n=21), takip süresi içerisinde nüks eden (n= 9) ve nüks etmeyen (n=12) şeklinde iki gruba ayrıldı. Metastazektomi sonrası nüks gelişimi belirlenen hastaların primer KRK dokularında, E-Kaderin ve TWIST ekspresyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmazken, SNAIL ekspresyonunda nüks etmeyen dokulara göre nüks eden grupta istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde 2-kat artış belirlendi (p<0,001). Bu hasta gruplarında E-Kaderin, SNAIL ve TWIST mRNA'larının ekspresyon değişimleri Şekil 3'de ifade edildi.



Şekil 3. Nüks yapan ve yapmayan karaciğer tümörlerinde (A) E-Kaderin, (B) SNAIL ve (C) TWIST mRNA'larını ekspresyon değerleri.

Takip süresince 14 hasta yaşamını yitirdi. Genel sağ kalım ortalama 84 ay olarak belirlendi. Hastalıksız sağkalımda ortalama 51 ay olarak saptandı. SNAIL, TWIST ve E-Kaderin'nin kısa hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım ile ilişkileri incelendiğinde, bu EMT belirteçleri ile kısa hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (p<0,05) (Şekil 4).



Şekil 4: (A) E-Kaderin, (B) SNAIL, ve (C) TWIST mRNA ekspresyon profillerinin genel sağkalım üzerine etkileri, (D) E-Kaderin, (E) SNAIL, ve (F) TWIST mRNA ekspresyon profillerinin hastalıksız sağkalım üzerine etkileri.

TARTIŞMA

KRK'da en önemli problem takip süresi içerisinde karaciğer metastazı gelişimidir. Metastazektomi, mKK hastalarında en etkili tedavi yöntemi olmasına rağmen, uygulanan bu cerrahi rezeksiyon sonrası hastaların yaklaşık %50-70' inde nüks oluşabilmektedir. Ayrıca bu hastalarda 5 yıllık sağkalım %25-50 oranındadır.[2] Klinikte, primer tümöre ait lenf nodu durumu, karaciğerdeki lezyon sayısı, preoperatif CEA seviyesi, mKK hastalarında prognozu tahmin etmede önerilen parametrelerdir.[2-4] Ancak günümüzde bu hastalarda nüksü ve kısa sağkalımı belirlemede kullanılabilecek güçlü bir parametre ya da skorlama sistemi bulunmamaktadır.

EMT, epitel kaynaklı tümörlerin metastaz geliştirmesinde etkili temel mekanizmalardan biri olarak görülmektedir.[5] Bu mekanizmanın hücre proliferasyonunu arttırıcı birçok sinyal yolaklarını kullanarak, mKK oluşumunda görev aldığı savunulmaktadır. Epitelyal hücreler tarafından eksprese edilen bir transmembran proteini olan E-kaderin en önemli EMT belirteçlerinden biridir. Bu protein, epitel hücre polaritesinin korunmasında ve hücrelerin epitelyal durumlarını sürdürmelerine izin veren hücre-hücre temaslarının stabilize edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. E-Kaderin ekspresyonunun aşağı regülasyonu KRK'da, lenf nodu metastazı, ileri evre, zayıf farklılaşma ve vasküler invazyon ile ilişkilendirilmiştir.[12] E-Kaderin seviyelerindeki bir azalmayı, genellikle epitelyal olmayan dokularda bulunan bir adezyon molekülü olan N-Kaderin'in yukarı regülasyonu takip etmektedir. N-Kaderin'nin, KRK'larda fibroblast büyüme faktörü reseptörü sinyali ve nükleer β-katenin aktivitesini artırarak tümör ilerlemesini desteklediği vurgulanmıştır.[13] Mevcut çalışmada, literatüre benzer olarak, normal doku ile karşılaştırıldığında KRK dokularında E-Kaderin ekspresyonunda düşüş, N-Kaderin ekspresyonunda ise artış belirlendi. Ek olarak, KRK'dan mKK oluşumunda N-Kaderin ekspresyon seviyesinin değişmediği, E-Kaderin ekspresyonunun düşüşünün devam ettiği tespit edildi. Bununla birlikte metastazektomi sonrası mKK'ların nüksünde E-Kaderin ve N-Kaderin ekspresyonlarında bir değişim saptanmadı.

KRK'larda E-Kaderin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörleri ve fonksiyonel proteinler doğrudan ve dolaylı baskılayıcılar şeklinde ikiye ayrılmaktadırlar.[14] E-Kaderin'nin doğrudan baskılayıcıları olan SNAIL, ZEB (ZEB1,2), E12/E47, Brachyury ve AP4, E-kadherin promotörüne, dolaylı baskılayıcılar olarak tanımlanan, TWIST (TWIST1,2), FOXC2, TCF4, SOX2, OCT4, NANOG, PROX1, SIX1, PRRX1, HMGA1 ve FRA-1 birden fazla hedefe bağlanarak bu proteinin ekspresyonunu düzenlemektedirler.[15,16] Mevcut çalışmada E-kaderin baskılayıcılardan SNAIL ve TWIST ekspresyonları değerlendirilmiş olup, TWIST'in KRK'dan mKK gelişiminde SNAIL'in ise hem mKK hemde metastazektomi sonrası nüks gelişiminde etkili olduğu belirlenmiştir.

Toiyama ve ark., KRK'larda yaptıkları çalışmada, EMT belirteçlerinden, TWIST'in aşırı ekspresyonunun, nodal invazyona ve karaciğer metastazı gelişimine neden olduğunu belirtmektedir.[17] Okada ve ark., 319 KRK tümöründe gerçekleştirdikleri araştırmada yüksek TWIST ekspresyonunu peritoneal ve karaciğer metastazı, erkek cinsiyet ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir.[18] Çalışmada, SLUG'un yukarı regülasyonu, güçlü VIMENTIN ekspresyonu ile önemli ölçüde ilişkili olduğu belirtilmiş, SLUG ve VIMENTIN yüksek ekspresyonu lenf nodu metastazı ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir.[19] Bununla birlikte literatürde metastazektomi sonrası meydana gelen nüks gelişiminde bu mekanizmanın aktivitesi henüz bilinmemektedir. Mevcut çalışmada mKRK'larda metastazektomi sonrası nüks gelişiminde EMT'nin rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda ilk olarak takip süresinde mKK gelişimi gözlenen 21 hasta ile mKK gelişmeyen 64 hastanın primer KRK dokularında EMT belirteçleri incelendi. Çalışmanın ikinci aşamasında ise prognostik belirteç adayları, mKK'da cerrahi tedavi yapıldıktan sonra nüks eden 9 hastanın primer tümör dokusu ile postop dönemde nüks belirlenmeyen 12 hastanın primer tümör dokusunda karşılaştırılarak analiz edildi.

Mevcut çalışmada, EMT belirteçlerinden VIMENTIN, E-KADERİN, N-KADERİN, TWIST, SNAIL, SLUG ve MMP-9 önce primer KRK'larda normal kolon dokusu karşılaştırılarak analiz edilmiştir. Normal doku ile karşılaştırıldığında KRK'larda, E-Kaderin, TWIST ve SNAIL'in yüksek ekspresyon profili gözlenmiştir. Takip süresinde nüks gelişimi gözlenen KRK'larda ise bu üç EMT belirtecinden sadece SNAIL 'in mKK gelişiminde rol oynadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte mKK'larda metastazektomi sonrası nüks gelişiminde EMT belirteçlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim belirlenmemiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda EMT'nin primer KRK'dan mKK oluşumunda görev aldığı ancak metastazektomi sonrası nüks oluşumu sürecinde etkili olmadığı öngörülmüştür. Mevcut literatürde, EMT'nin, tümör hücresi istilası ve metastazı ile ilişkili hepatositlerin malignitesinde bir artışa neden olduğunu gösteren bir çalışma mevcuttur.19 Bu çalışmada in-vitro ortamda yapılmış olup mKK'da değil primer hepatoselüler kanser hücrelerinde gerçekleştirilmiştir.[20] Günümüzde, EMT mekanizmalarının kronik inflamasyon ve hepatik fibroz sırasında miyofibroblastlar oluşturmak için kullanıldığına dair kanıtlar birikmektedir ve hepatosit soyunun fibrozisin ilerlemesine katkıda bulunduğunu göstermektedir.[21] Ancak mKK'larda EMT sürecinin aktivitesini gösteren bir yayın bulunmamaktadır.

Mevcut çalışmada birtakım sınırlamalar mevcuttur. İlk olarak çalışma sınırlı sayıda vakanın dahil olduğu retrospektif olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulguların validasyonu ve biyobelirteç adayların eşik değerlerinin tespiti için vaka sayısının arttırılması gerekmektedir. Bununla birlikte EMT'nin KRK'dan mKK oluşumunda rol oynadığı literatürde bilinmesine rağmen metastazektomi sonrası nüks gelişiminde etkinliği ilk defa bu çalışmada gösterilmiştir. Mevcut çalışmada elde edilen sonuçlar, normal kolorektal dokusu ile karşılaştırıldığında yüksek SNAIL ekspresyonuna sahip primer KRK tümörlerinin takip süresi içerisinde mKK geliştireceğini ve bu vakalara metastazektomi yapılmasına rağmen sonrasında tekrar nüks oluşabileceğini öngörmektedir.

Etik Kurul Onayı

İnsan katılımcıların biyolojik materyallerini dahil etmede gerçekleştirilen prosedürler, kurumsal ve ulusal araştırma komitesi (enstitü/komitenin adı) ve 1964 Helsinki deklarasyonu ve müteakip değişiklikler veya karşılaştırılabilir etik standartlar ile yapılan çalışmalara uygundur. Bu çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (etik numarası: 2019-6/35). Çalışmaya dahil edilen her katılımcıdan imzalı bilgilendirilmiş onay alındı.

Çıkar İlişkisi

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar ilişkisi bulunmamaktadır.

Teşekkür

Bu makalede yer alan çalışmalar KUAP(T)-2019/8 nolu proje kapsamında Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar ProjelerBirimi (BAP) tarafından desteklenmiştir.

Katkı Oranı Beyanı

Fikir AK, Deneysel analizler SAA, Sonuçların yorumlanması BT, Deneysel analizler ME, Deneysel analizler ÇT, Verilerin toplanması NU, Ömer YERCİ, Makale yazımı FA, Fikir, Makale yazımı, verilerin analizi EK

Kaynaklar

1. *Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2020;70:7-30.*
2. *Siegel RL, Miller KD, Goding Sauer A, Fedewa SA, Butterly LF, Anderson JC, et al. Colorectal cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2020;70:145-164.*
3. *Weiser MR, Jarnagin WR, Saltz LB. Colorectal cancer patients with oligometastatic liver disease: what is the optimal approach? Oncology. 2013;27(11):1074–8.*
4. *Gunawardene A, Desmond B, Shekouh A, Larsen P, Dennett E. Disease recurrence following surgery for colorectal cancer: five-year follow-up. N Z Med J. 2018;131(1469):51–8.*
5. *Segal NH, Saltz LB. Evolving treatment of advanced colon cancer. Annu Rev Med. 2009;60:207-219.*
6. *Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease: old views and new perspectives. Int J Dev Biol. 2009;53(8-10):1541-1547.*
7. *Ye X, Tam WL, Shibue T, Kaygusuz Y, Reınhardt F, Eaton EN, et al. Distinct EMT programs control normal mammary stem cells and tumour-initiating cells. Nature. 2015;525(7568):256-260.*
8. *Lindner P, Paul S, Eckstein M, Hampel C, Muenzner JK, et al. EMT Transcription factor ZEB1 alters the epigenetic landscape of colorectal cancer cells. Cell Death Dis. 2020;11(2):147.*
9. *Li L, Liu J, Xue H, Li C, Liu Q, Zhou Y, et al. A TGF-β-MTA1-SOX4-EZH2 signaling axis drives epithelial-mesenchymal transition in tumor metastasis. Oncogene. 2020;39(10):2125-2139.*
10. *Zhao P, Guo S, Tu Z, Di L, Zha X, Zhou H, et al. Grhl3 induces human epithelial tumor cell migration and invasion via downregulation of E-cadherin. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai). 2016;48(3):266-274.*
11. *Kourtidis A, Lu R, Pence LJ, Anastasiadis PZ. A central role for cadherin signaling in cancer. Exp Cell Res. 2017;358(1):78-85.*
12. *Christou N, Perraud A, Blondy S, Jauberteau MO, Battu S, Mathonnet M. E-cadherin: A potential biomarker of colorectal cancer prognosis. Oncol Lett. 2017;13(6):4571–4576.*
13. *Yan X, Yan L, Liu S, Shan Z, Tian Y, Jin Z. N-cadherin, a novel prognostic biomarker, drives malignant progression of colorectal cancer. Molecular Medicine Reports. 2015;12(2):2999-3006.*
14. *Al Khatib AM, Mărgăritescu C, Taisescu O, Andreiana BC, Florescu MM, Ciurea RN. Immunoexpression of E-cadherin, Snail and Twist in colonic adenocarcinomas. Rom J Morphol Embryol. 2019;60(2):531-536.*
15. *Yook JI, Li XY, Ota I, Fearon ER, Weiss SJ. Wnt-dependent regulation of the E-cadherin repressor snail. J Biol Chem. 2005;280(12):11740-11748.*
16. *Aiello NM, Kang Y. Context-dependent EMT programs in cancer metastasis. J Exp Med. 2019;216(5):1016-1026.*
17. *Toiyama Y, Yasuda H, Saigusa S, Tanaka K, Inoue Y, Goel A, et al. Increased expression of Slug and Vimentin as novel predictive biomarkers for lymph node metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. Carcinogenesis. 2013;34(11):2548–2557.*
18. *Okada T, Suehiro Y, Ueno K, Mitomori S, Kaneko S, Nishioka M, et al. TWIST1 hypermethylation is observed frequently in colorectal tumors and its overexpression is associated with unfavorable outcomes in patients with colorectal cancer. Genes, chromosomes cancer. 2010;49:452–462.*
19. *Mikulits W. Epithelial to mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. Future Oncol. 2009;5(8):1169–1179.*
20. *Liu L, Sun Q, Davis F, Mao J, Zhao H, Ma D. Epithelial-mesenchymal transition in organ fibrosis development: current understanding and treatment strategies. Burns Trauma. 2022;8:10:tkac011.*
21. *Zhao YL, Zhu RT, Sun YL. Epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis. Biomed Rep. 2016;4(3):269-274.*