

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOLON KANSERLİ HASTALARDA T LENFOSİT ALT
GRUPLARINDA VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME
FAKTÖRÜ RESEPTÖRÜ İLE EPİDERMAL BÜYÜME
FAKTÖRÜ RESEPTÖR EKSPRESYONLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mehmet ARTAÇ

DOKTORA TEZİ

İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Doç. Dr. Melike EMİROĞLU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
tarafından 19202043 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2023

ÖNSÖZ

Doktora tezim boyunca desteğini hiç esirgemeyen danışmanım Doç.Dr. Melike Emiroğlu'na,

Araştırmanın her aşamasında önemli katkıları olan İmmünoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Hasibe Artaç'a,

Çalışmanın analizlerinin yapılmasında önemli katkıları olan Dr. Ayça Ceylan'a, Doktora eğitimim sırasında ders aldığım çok değerli İmmünoloji Anabilim Dalı hocalarıma,

Tez izleme komitesinde yer alan çok değerli hocalarıma,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mehmet Artaç

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
SİMGELER VE KISALTMALAR	iii
TABLolar LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kolon Kanseri.....	2
1.1.1. Epidemiyoloji	2
1.2.1. Etiyoloji	3
1.2.3. Kolon Kanserinin Moleküler Patogenezi	4
1.2. Tümör İmmünolojisi.....	9
1.2.1. T Hücre Alt Grupları.....	14
2. GEREÇ VE YÖNTEM	20
2.1. Olgular	20
2.2. Flow sitometrik Analizler	20
2.3. İstatistiksel Analizler	24
3.BULGULAR	26
3.1. Demografik ve Klinik Bulgular.....	26
3.2. T Hücre Alt Grupları.....	28
3.3. T Hücrelerinde Kemokin Reseptör Ekspresyonları.....	28
3.4. T Hücre Alt Gruplarında PD-1 Ekspresyonlarının Karşılaştırılması.....	31
3.6. T Hücre Alt Gruplarında VEGFR Ekspresyonlarının Karşılaştırılması ..	34
3.7. Hemogram, Biyokimyasal Testler ve T hücre Alt Grupları Korelasyonları	36
4. TARTIŞMA	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
6. KAYNAKLAR	51
EK-A: Tezden Üretilmiş Yayınlar	62
EK-B: Turnitin Raporu	63

SİMGELER VE KISALTMALAR

APC	: Adenomatöz polipozis
BRCA	: Meme Kanseri geni
CCR4	: C-C kemokin reseptör tip 4
CCR6	: C-C kemokin reseptör tip 6
CDK	: Siklin bağımlı kinaz
CDKI	: Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri
CIMP	: CpG island methylator phenotype
CIN	: Kromozomal İstabilite
CRP	: C reaktif protein
CSF	: Koloni stimulan faktör
CXCR3	: C-X-C motif kemokin reseptör 3
CXCR5	: C-X-C motif kemokin reseptör 5
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EBV	: Epstein-Barr virüsü
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
FAP	: Familial Adenomatöz Polipozis
FSC	: İleri saçılım, forward scatter
G evresi	: Gap evresi
GFR	: Büyüme faktörü reseptörü
HBV	: Hepatit B virüs
HCV	: Hepatit C virüs
HIV	: Human immunodeficiency virus
HNPPC	: Hereditör Non-Polipozis Kolorektal Kanseri
IARC	: Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı
Ig	: İmmüoglobulin
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL	: İnterlökin
K.K.	: Korelasyon katsayısı
LDH	: Laktat dehidrogenaz
M evresi	: Mitoz evresi

MFI	: Ortalama-ortanca floresan yoğunluğu
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MSI	: Mikrosatellite instabilite
NLR	: Nötrofil/lenfosit oranı
PD-1	: Programlanmış hücre ölüm proteini
PDGF	: Platelet kökenli büyüme faktörü
PIGF	: Plasenta büyüme faktörü
Rb	: Retinoblastoma
S evresi	: Sentez evresi
STL	: Sitotoksik T lenfosit
Tfh	: Foliküler T hücre
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
Th	: Yardımcı T Hücre
TK	: Tirozin kinaz
TNM	: Tümör, Nodül, Metastaz
Tph	: Periferel T hücre
USPSTF	: US Preventive Services Task Force
UV	: Ultra viyole
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Ekprese ettikleri hücre yüzey reseptörlerine göre T hücre alt gruplarının sınıflandırılması	22
Tablo 3.1. Kolon kanserli hastaların laboratuvar verilerinin karşılaştırılması	27
Tablo 3.2. Kolon kanserli hastaların T hücre alt gruplarının karşılaştırılması	28
Tablo 3.3. Kolon kanserli hastaların evrelerine göre T hücre alt gruplarındaki kemokin ekspresyonlarının karşılaştırılması	29
Tablo 3.4. Evrelerine göre kolon kanserli hastalarda T hücre alt gruplarının PD-1 ekspresyonları açısından karşılaştırılması	31
Tablo 3.5. Evrelerine göre kolon kanserli hastalarda T hücre alt gruplarının EGFR ekspresyonları açısından karşılaştırılması	32
Tablo 3.6. Evrelerine göre kolon kanserli hastalarda T hücre alt gruplarının VEGFR ekspresyonları açısından karşılaştırılması	34
Tablo 3.7. T hücre alt grupları ve biyokimyasal test korelasyonları	37
Tablo 3.8. Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre yüzey PD-1 ekspresyonları arasındaki korelasyonlar	38
Tablo 3.9. Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre yüzey EGFR ekspresyonları arasındaki korelasyonlar	39
Tablo 3.10. Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre yüzey VEGFR ekspresyonları arasındaki korelasyonlar	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. CD4 ⁺ Th alt gruplarının akım sitometrik analizleri	22
Şekil 2.2. CD8 ⁺ STL alt gruplarının akım sitometrik analizleri.....	23
Şekil 2.3. T hücrelerinde EGFR ekspresyonlarının flow sitometrik analizleri	23
Şekil 2.4. T hücrelerinde VEGFR ekspresyonlarının flow sitometrik analizleri	24



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Kolon Kanserli Hastalarda T Lenfosit Alt Gruplarında Vasküler Endotelial
Büyüme Faktörü Reseptörü ile Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör
Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi**

Mehmet Artaç
İmmünoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2023

Giriş: Kolon kanseri için önemli yolaklar olan VEGFR ve EGFR' nin lenfositler üzerindeki ekspresyonu ve bunun diğer prognostik faktörlerle ilişkisi bilinmemektedir. Bu çalışma, kolon kanserli hastalarda dolaşan T hücre alt grupları arasındaki VEGFR ve EGFR ekspresyon farklılığını ortaya koymak ve bunların prognostik faktörlerle ilişkisini ortaya çıkarmak için yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Prospektif olarak seçilen çalışma grubu histolojik olarak doğrulanmış kolon kanseri olan 52 hasta ve kontrol grubu olarak herhangi bir kanser öyküsü olmayan 30 kişiden oluşmuştur. Hastalardan tanı konulduktan sonra kemoterapi ve radyoterapiye başlamadan önce periferik kan örnekleri toplanmıştır. Aktif enfeksiyonu veya otoimmün bozukluğu olan ve çalışmaya kaydolmadan önceki son dört hafta içinde steroid ve antibiyotik tedavisi gören hastalar çalışma grubundan çıkarılmıştır. Dolaşımdaki T hücre alt kümelerindeki (Th1, Th2, Th17, STL) VEGFR2 ve EGFR ekspresyonları akış sitometrisi ile analiz edilmiştir. Hastaların klinik bilgilerine hasta dosyalarından ulaşılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen kolon kanserli olguların 30'u (%57,7) erkek, 22'si (%42,3) kadın idi. Kontrol grubunun ise 16'sı (%53,3) erkek, 14'ü (%46,7) kadın idi. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet ve yaş ortalaması açısından anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Kolon kanserli hastaların nötrofil/lenfosit oranı (NLR) ve CEA seviyeleri normal sınırlara göre artmıştı. İleri evre hastalarda Th1 hücreleri kontrole göre daha yüksek ve CD4⁺ Tfh'leri ise daha düşüktü ($p = 0,01$). CD8⁺ Tfh'lerinde ileri evre hastalarda erken evre hastalara göre artış saptandı ($p = 0,02$). Kolon

kanserli hastaların CD3⁺ T hücre ve CD4⁺ Th hücrelerinde EGFR yüzde oranı kontrole göre düşüktü (sırasıyla, p = 0,001, p = 0,03). Lenfosit, CD3⁺ T hücre, CD4⁺ Th, Th1, Th2, Th17 ve CD4⁺ Tfh hücrelerinin EGFR yüzey ekspresyonunda ise artış saptandı. Kolon kanserli hastalarda CD3⁺ T hücre ve CD4⁺ Tfh'lerin VEGFR yüzde oranı ile CD4⁺ Tfh'lerin VEGFR ekspresyonu kontrol grubuna göre düşüktü (sırasıyla, p = 0,047, p = 0,04, p = 0,049). Th1, Th2, CD4⁺ Tfh, CD8⁺ STL ve CD8⁺ Tfh'lerinin VEGFR ekspresyonları kontrole göre artmıştı.

Tartışma: Bu çalışmada literatürde ilk defa olarak, kolon kanserinde periferal T lenfosit alt gruplarında lenfosit yüzeyindeki VEGFR ve EGFR yüzey ekspresyonlarının önemi ortaya kondu. Lenfosit yüzeyindeki bu reseptörlerin kolon kanseri ile ilişkili prognostik biyobelirteçlerle ilişkisi değerlendirilerek literatüre önemli bir katkı sağlanmıştır. Bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Kolon kanseri, T lenfosit alt grupları, EGFR, VEGFR, Sitotoksik T lenfositler

REPUBLIC OF TURKEY
SELCUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

**Evaluation of Vascular Endothelial Growth Factor and Epidermal Growth
Factor Receptor Expressions in T Lymphocyte Subsets in Patients with Colon
Cancer**

Mehmet ARTAÇ
Department of Immunology
PhD THESIS / KONYA-2023

Introduction: The expression of VEGFR and EGFR on lymphocytes, which are important pathways for colon cancer, and their relationship with other prognostic factors are not known. This study was conducted to determine the differences in VEGFR and EGFR expression between circulating T cell subsets in patients with colon cancer and their relationship with prognostic factors.

Materials and Methods: The prospectively selected study group consisted of 52 patients with histologically confirmed colon cancer and 30 subjects without any history of cancer as control group. Peripheral blood samples were collected from the patients after diagnosis and before starting chemotherapy and radiotherapy. Patients with active infections or autoimmune disorders and those who had received steroid and antibiotic treatment in the last four weeks prior to enrollment were excluded from the study group. VEGFR2 and EGFR expressions in circulating T cell subsets (Th1, Th2, Th17, CTL) were analyzed by flow cytometry. Clinical information of the patients were obtained from the patient files.

Results: Among the colon cancer patients included in the study, 30 (57.7%) were male and 22 (42.3%) were female. In the control group, 16 (53.3%) were male and 14 (46.7%) were female. There was no significant difference between the patient and control groups in terms of gender and mean age ($p > 0.05$). Neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) and CEA levels of colon cancer patients were increased compared to normal limits. Th1 cells were higher and CD4⁺ Tfh were lower in advanced stage patients compared to control ($p = 0.01$). CD8⁺ Tfh were increased in advanced stage patients compared to early stage patients ($p = 0.02$). The percentage of EGFR in

CD3⁺ T cells and CD4⁺ Th cells of colon cancer patients was lower than the control (p = 0.001, p = 0.03, respectively). EGFR surface expression was increased in lymphocytes, CD3⁺ T cells, CD4⁺ Th, Th1, Th2, Th17 and CD4⁺ Tfh cells. The VEGFR percentage ratio of CD3⁺ T cells and CD4⁺ Tfh and VEGFR expression of CD4⁺ Tphs were lower in colon cancer patients compared to the control group (p = 0.047, p = 0.04, p = 0.04, p = 0.049, respectively). VEGFR expression of Th1, Th2, CD4⁺ Tfh, CD8⁺ STL and CD8⁺ Tfh was increased compared to control.

Discussion: In this study, for the first time in the literature, the importance of VEGFR and EGFR surface expression on the lymphocyte surface in peripheral T lymphocyte subsets in colon cancer was demonstrated. The relationship of these receptors on the lymphocyte surface with prognostic biomarkers associated with colon cancer has been evaluated and an important contribution to the literature has been made. Further studies on this subject are needed.

Key words: Colon cancer, T lymphocyte subtypes, EGFR, VEGFR, Cytotoxic T lymphocytes

1. GİRİŞ

Kolon kanseri, Dünya Sağlık Örgütü'nün uluslararası kanser araştırma verilerine göre tüm dünyada kanser tanısı alan hastalar arasında en sık görülen üçüncü kanserdir (Ferlay ve ark 2015). Dünya'da kansere bağlı ölümler açısından bakıldığında ise kolon kanserinin ikinci en sık kansere bağlı ölüm nedeni olduğu görülmektedir (Ferlay ve ark 2015). Avrupa'da kolon kanseri insidansı Asya ve Kuzey Amerika'ya göre daha yüksektir (Wong ve ark 2020). Kolon kanseri ülkemizde de kadınlarda ve erkeklerde en sık görülen üçüncü kanserdir. Kolon kanserinin son zamanlarda giderek artıyor olmasının nedenleri arasında obeziteye bağlı inflamasyon ve insülin direnci önemlidir (Ahechu ve ark 2018). Kolon kanseri insidansı Amerika'da 50 yaşın üzerinde giderek azalmakta iken, 50 yaşın altında ise giderek artmaktadır. (Siegel ve ark 2017). Erken başlangıçlı (50 yaşın altında) kolon kanseri artışının nedeni tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte kılavuzlar sağlıklı popülasyonda kolon kanseri tarama programlarının eskiden olduğu gibi 50 yaşında başlamasının artık geç olduğunu ifade etmeye başlamışlardır (Knudsen ve ark 2021). US Preventive Services Task Force (USPSTF) sağlıklı popülasyonda kolon kanseri için tarama programlarının 45 yaşında başlamasını önermektedir (Knudsen ve ark 2021). Son yıllarda Doğu Avrupa'da kolon kanseri insidansı giderek artmaktadır. Kolon kanseri hücreleri anjiogenik faktörler salgılayarak tümörün belirli bir boyuta gelmesi için yeterli oksijen ve besinin kanserli dokuya ulaşmasını sağlamaktadırlar(Ahluwalia ve ark 2014). Burada temel anjiogenik faktör vasküler endotelial büyüme (VEGF) faktörüdür. Epidermal büyüme faktörü reseptör (EGFR) aktivasyonu kolon kanseri patogenezinde önemlidir (de Castro-Carpeño ve ark 2008). EGFR ekspresyonunun tümör dokusunda normal kolon dokusuna göre çok daha fazla olduğu gösterilmiştir (Spano ve ark 2005). Kolon kanseri çoğunlukla distal yerleşimli sol kolon kanseri şeklinde ortaya çıkarken, son yıllarda sağ kolon kanseri insidansının Avrupa ve Amerika'da giderek arttığı görülmektedir (Nelson ve ark 1997). Sağ kolon tümörlerinin sol kolon tümörlerine göre prognozunun daha kötü olduğu bilinmektedir.

1.1. Kolon Kanseri

1.1.1. Epidemiyoloji

Tüm dünyada bir yılda görülen tüm kanserlerin yaklaşık %10'unu kolon kanseri oluşturmaktadır (Jemal ve ark 2010). Kolon kanseri ülkelerin sosyoekonomik gelişmişlik düzeyini gösteren bir belirteç gibidir, ülkelerin gelişmişlik düzeyi arttıkça kolon kanseri de artmaktadır (Sung ve ark 2021). Yaş, diğer demografik faktörlere göre kolorektal kanser insidansını etkileyen en önemli faktördür. Sporadik kolorektal kanser olgularının 45-50 yaş aralığında artmaya başladığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Aktif tarama programı uygulanan ülkelerde 50 yaş üstü kişilerde kolon kanseri insidansı azalırken, 50 yaş altı gençlerde kolon kanserinin giderek artmaya başladığı görülmüştür. 50 yaş altı gençlerde görülen kolon kanserlerinin daha ileri evrelerde tanı aldığı görüldüğünden, kolon kanseri tarama programlarının daha erken yaşlarda başlaması önerilmektedir. Türkiye'de kolon kanserine bağlı kanser ölümleri 2009 -2014 yılları arasında yılda %5.8 oranında artarken, 2015-2019 yılları arasında yılda %3.3 oranında azalmıştır (Teker ve Ay 2022). Kolon kanserine bağlı ölüm oranlarının ülkemizde son yıllarda azalmasının nedeni tarama programlarının yaygınlığının artması ile erken tanı ve tedavi olabilir. Bunun yanında, günümüzdeki kolon kanseri tedavisindeki ilerlemeler özellikle yeni hedefe yönelik tedaviler ve immünoterapi kullanımı kolon kanserli hastalarda ölüm oranlarının azalmasına katkıda bulunabilir.

Kolon kanserinin tanı anındaki yayılım ve invazyon durumu hastalığın evresi şeklinde tanımlanır. Kolon kanserinin evrelemesinde American Joint Committee on Cancer 'in geliştirmiş olduğu tümör-lenf nodu - metastaz (TNM) sistemi genel olarak kabul gören evreleme sistemidir (O'Connell ve ark 2004). Kolon kanserinde sağkalım evreler ilerledikçe azalmaktadır. Evre I kolon kanserinde 5-yıllık genel sağkalım %90'ının üzerinde iken Evre IV'de %10'unun altına düşmektedir. Bununla birlikte, TNM sınıflaması yaygın olarak kullanılmasına rağmen prognozu istenen düzeyde ortaya koyamamaktadır. Aynı evredeki benzer histopatolojiye sahip hastalar genetik ve epigenetik farklılıkları nedeniyle farklı prognoz ve sağkalımlara sahip olabilmektedirler. Bu nedenle kolon kanseri için yeni prognostik faktörlerin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

1.2.1. Etiyoloji

Kalıtsal Predispozisyon

Aile öyküsü, kolon kanseri riskini birinci veya ikinci dereceden akrabalarda görülmesi durumuna göre artırmaktadır. En az bir birinci dereceden akrabada kolon kanseri görülmesi kolon kanseri görülme riskini ikiye katlamaktadır (Fuchs ve ark 1994). Ailesel risk için iki önemli kriter vardır; birincisi en az bir birinci dereceden akrabada 50 yaşın altında kolon kanseri görülmesidir, ikincisi ise birden fazla birinci dereceden akrabasında kolon kanseri görülmesidir (Mangas-Sanjuan ve Jover 2022). Aile öyküsü olan kişilerde kolon kanseri tarama programlarının 40 yaşında başlaması önerilmektedir.

Hereditör kanser sendromlarından en önemli 2 tanesi; familial adenomatöz polipozis (FAP) ve hereditör non-polipozis kolorektal kanser sendromlarıdır. Tüm kolorektal kanserlerin %5'inde bu iki sendromdan biri mevcuttur. FAP'da otozomal dominant bir geçiş söz konusudur. Hastalar 20'li yaşlarda kolonda binlerce polip ile klinik bulgu verirler. Adenomatöz polipozis koli geninde mutasyon vardır. Yaşam boyu kolon kanseri gelişme riski %100'dür. Hereditör non-polipozis kolorektal kanser (Lynch Sendromu) ise en sık görülen hereditör kolon kanseri sendromudur. Otozomal dominant bir geçiş olmakla birlikte, yaşam boyu kolon kanseri gelişme riski %40-70 civarındadır. Bu sendromda DNA tamir (mismatch repair) genlerinde mutasyon vardır. Özellikle MLH1, MSH6, MSH2, PMS2 genlerinde mutasyonlar şeklinde karşımıza çıkabilir. Son yıllarda tarama amaçlı immünohistokimyasal olarak tümör dokusunda bu genlerle ilgili proteinlerin ekspresyon kayıplarını değerlendirmek rutin bir uygulama haline gelmiştir.

Diyet

Obezite ve total kalori alımının kolon kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir. Erken erişkin yaşlarda kilo alımının gençlerde kolon kanseri görülme riskini arttırmaktadır. Kırmızı etin kolon kanseri riskini artırdığı gösterilmiş iken, beyaz etle ilgili herhangi bir risk söz konusu değildir (Willett ve ark 1990). Farelerde yapılan bir çalışmada, yüksek yağlı diyetin kolonik inflamasyonu, Beta katenini ve Ki-67

proliferasyon indeksini artırdığı gösterilmiştir (Zeng ve ark 2022). İtalya’da yapılan bir çalışmada prebiyotik fiber kullanımı ile kolon kanseri gelişimi arasında ters bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Turati ve ark 2022). Özellikle, Galakto-oligosakkaridlerin kullanımının kolon kanseri gelişme oranını diğer fiberlere oranla daha fazla etkilemektedir. Barsak mikrobiyotasının sağlıklı gelişimi diyetle yakından ilişkilidir.(Leeming ve ark 2019). Deneysel çalışmalarda barsak mikrobiyotasında disbiyosis oluştuğunda kolon kanseri gelişiminin hızlandığı gösterilmiştir(Wong ve Yu 2019). Kolon kanseri gelişimini engellemek için diyetle mikrobiyotaya müdahale edilmesinin faydalarını gösteren daha kapsamlı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. Kahve alımının kolon kanseri riskini azaltabileceğine dair yayınlar vardır (Schmit ve ark 2016). Prospektif çalışmaların bir meta-analizinde kırmızı et, işlenmiş kırmızı et ürünleri ve alkolün kolon kanseri riskini artırdığı gözlenirken, süt ve tam tahıl ürünlerinin kolon kanseri riskini azalttığı saptanmıştır (Vieira ve ark 2017).

Fiber

Fiberden zengin beslenmenin özellikle Afrika’da kolon kanserinin az görülmesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Irabor 2017). Ancak, özellikle son dekarda batılı tarzda fast food beslenme tarzının Afrika’da da giderek artıyor oluşu kolon kanseri insidansında bir artışa neden olmuştur (Irabor 2017). Yüksek fiberli beslenme fekal karsinojenlerin dilue olmasına, kolon geçiş zamanının kısalmasına ve daha iyi bir luminal çevre oluşmasına neden olacaktır.

1.2.3. Kolon Kanserinin Moleküler Patogenezi

Kolon kanseri diğer solid tümörler gibi moleküler açıdan bakıldığında oldukça heterojen bir hastalıktır. Kolon kanserli hastaların %65’inde olgular sporadik olarak gelişmiştir (Burt 2007). Bu hastalarda herhangi bir aile öyküsü veya bilinen bir genetik predispozisyon yoktur. Sporadik kolon kanserli olguların yaklaşık %85’inde kromozom sayısı ve yapısında değişiklikler ile seyreden kromozomal instabilite mevcuttur. Kromozomal değişiklikler içinde kromozomal segmentlerin kaybı veya kazanılması, kromozomal yeniden düzenlenme ve heterozigosite kaybı (LOH) sık görülür ve bunların sonucunda gen kopya sayısı varyasyonları (CNVs) oluşur (Markowitz ve Bertagnolli 2009). Bu kromozomal değişiklikler tümör ilişkili

genlerin, hücre proliferasyonunu kontrol eden genlerin ve hücre siklusu kontrol noktasını yöneten genlerin ekspresyonlarını değiştirerek, kolon kanserinin başlamasını ve progresyonunu sağlayan önemli yolların aktivasyonuna yol açmaktadırlar (Pino ve Chung 2010). Sporadik kolon kanserli olguların kalan %15'lik kısmındakilerde ise yüksek mikrosatellite instabilite (H-MSI) varlığı söz konusudur. DNA tamir genlerindeki mutasyonlar sonucunda DNA üzerinde kısa DNA dizi tekrarlarının gelişmesi mikrosatellite instabiliteyi oluşturur (Lynch ve de la Chapelle 2003). Kolon kanserinin sporadik olmayan kısmında ise en çok bilinen herediter kolon kanseri formları arasında: Familyal Adenomatöz Polipozis (FAP) ve Herediter Non-Polipozis Kolorektal Kanser (HNPPC) sendromları bulunmaktadır. FAP kolon kanserlerinin %1'inden sorumludur. Adenomatöz polipozis (APC) geninde kalıtsal bir mutasyon söz konusudur. HNPPC (Lynch Sendromu) ise kolon kanserlerinin %3'ünden sorumludur. Burada DNA tamir genlerinde kalıtsal mutasyonlar sonucunda yüksek mikrosatellite instabilite (H-MSI) gelişmiştir.

Kolon kanseri gelişiminde genetik ve epigenetik değişiklikler iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Kolon kanserinin sporadik ve kalıtsal formlarında adenomdan karsinoma doğru ilerleyen bir geçiş vardır. Genellikle, kolorektal kanser normal kolon epitelinde benign bir adenoma olarak başlar. Giderek birçok genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimi sonucunda adenom karsinoma doğru ilerleyerek invaziv ve metastatik bir tümör haline gelir (Fearon ve Vogelstein 1990). Bu süreç çok basamaklı bir süreç olup epiteldeki birçok tabakayı geçebilmesi on yıllar alabilmektedir. Kalıtsal kolon kanseri formlarında bu süreç sporadik formlara göre çok daha kısa olabilmektedir. Kolon kanseri patogenezi ile ilişkili üç önemli anayolak CIN, MSI ve CpG island methylator phenotype (CIMP)'dir.

Kromozomal İnstabilite (CIN) Yolağı

CIN kolon kanserinde adenoma karsinoma dönüşümünde %85 oranında en sık görülen genetik instabilite yolağıdır. Kromozomlarda yüksek oranda görülen büyük parçalar şeklinde kayıp ve kazanımlar kromozomal instabilite olarak tanımlanır. CIN tümörlerde mutasyonların KRAS proto-onkogeni ve BRAF proto-onkogeni gibi spesifik onkogenlerde birikimine neden olabilir. Aynı şekilde tümör baskılayıcı genlerde, örneğin APC ve tümör protein p53(TP53)'de mutasyonların

birikimi kolon kanseri karsinogenezine katkıda bulunur (Markowitz ve Bertagnolli 2009). Bu şekilde mutasyonların birikimi sonunda kolon kanseri gelişimini açıklayan Fearon ve Vogelstein tarafından geliştirilen çok basamaklı kolon kanseri karsinogenez modeli, tüm solid tümörlerin gelişimi için örnek bir model olarak kabul edilmiştir. (Fearon ve Vogelstein 1990). Bu modele göre öncelikle APC geninde oluşan mutasyon sonucu APC geninin inaktivasyonu karsinogenez sürecini başlatan ilk olay olarak kabul edilir. Bunu kolon adenomu gelişimi sürecinde KRAS ongenini aktive eden mutasyonlar takip eder. Daha sonraki aşamada ise kromozom 18q delesyonu ve kromozom 17p (kısa) kolunda bulunan tümör baskılayıcı TP53 geninin mutasyonlarla inaktivasyonu adenom safhasından kanser oluşumu safhasına geçişi sağlar. Bütün bu genlerde izlenen aktivasyon kazanma (gain of function) ve inaktivasyon (loss of function) mutasyona uğrayan hücrelere hücre çoğalması ve sağkalım avantajı sağlar. Bu sürecin sonunda normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüşümü gerçekleşir. Kolon karsinogenezinde rol oynayan çok sayıda kromozomal değişiklik (1p, 5q, 8p, 17p 18q ve diğerleri) söz konusudur ve bu durum çok fazla sayıda gen üzerinde etkili olduğundan hedef genlerin tam olarak ortaya konmasını zorlaştırmaktadır (Nowell 1976).

Geç karsinogenezde rol oynayan kromozom 18q delesyonları kolon kanserlerinin %70'inde görülür. Kolon kanserli hastalar için kötü prognozla ilişkili bir biyomarkır olarak kabul edilir (Jen ve ark 1994). Kromozom 18 delesyonlarının kolon karsinogenezinde önemli role sahip DCC, SMAD2 ve SMAD4 gibi tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna neden olabileceği gösterilmiştir (Zauber ve ark 2008).

APC mutasyonları erken karsinogenezde ilk gelişen mutasyonlardandır ve kolorektal kanserlerin %90'nında bulunmaktadır (Coppedè ve ark 2014). Germline APC mutasyonları FAP 'a neden olmaktadır, somatik APC mutasyonları ise sporadik kolorektal kanserlerin gelişiminden sorumludur (Kapitanović ve ark 2004). APC geni promotor hipermetilasyonu yolu ile de epigenetik olarak inaktive edilebilir. Kromozom 5q'da bulunan bir tümör baskılayıcı gen olan APC'nin inaktivasyonu Wnt sinyal yolağının aktivasyonuna neden olur (Powell ve ark 1992). APC proteini Beta-katenin proteininin yıkılmasından sorumlu yıkım kompleksinin anahtar proteindir. Beta-katenin yıkım kompleksi Wnt/Beta-katenin sinyal yolağının

inhibisyonundan sorumludur. Mutant APC yıkım kompleksinin oluşumunu engeller. Bu durum, sitoplazmada Beta-katenin proteininin birikimine neden olur. Artan Beta-katenin hücre çekirdeğinde kompleksler oluşturarak Wnt yolağının hedef moleküllerinde aşırı aktivasyona neden olarak kanser hücrelerinin proliferasyon, migrasyon, invazyon ve metastaz yeteneklerini arttırmaktadır (Stanczak ve ark 2011).

Genomun gardiyanı olarak bilinen TP53 geni kolorektal kanserli hastalarda sıklıkla inaktivedir. TP53 geninin kodladığı transkripsiyon faktörü DNA tamiri, hücre siklusu ve apoptozis oluşumunda görevli yüzlerce genin transkripsiyonunu düzenler (Levine 1997). DNA hasarı oluştuğunda hasar tamir edilemez ise TP53 geni hücre siklusunu G1 veya G2 fazında durdurur ve apoptozis sürecini başlatır. TP53 geninin fonksiyonlarının kaybı DNA hasarının çoğalan hücrelerde yavru hücrelere aktarılmasına neden olur. TP53 geninin fonksiyon kaybı kolorektal kanserli hastaların yaklaşık %70'inde görülmektedir. Kolon kanserinde TP53 mutasyonlarının çoğunun missense mutasyonları ve nokta mutasyonları şeklinde olduğu gösterilmiştir.(Liu ve Bodmer 2006).

KRAS geni RAS geni ailesinin bir üyesi olup, hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve sağkalımı ile ilişkili sinyal yollarını düzenler. KRAS insan hücre membranına bağlı intrinsik GTPaz aktivitesi olan bir GTP/GDP bağlayıcı proteindir. GTP'ye bağlandığı zaman aktif duruma geçer, GDP'ye bağlı olduğu zaman ise inaktive duruma geçer. GTPaz aktivite edici proteinler GTP/GDP bağlanma durumunu düzenler. KRAS mutasyonları intrinsik GTPaz aktivitesini bozarak, KRAS proteinlerinin birikimine ve GTP bağlanma durumunda kalınmasına neden olarak, proliferatif sinyal yollarının sürekli aktif kalmasına neden olur (Schubbert ve ark 2007). Onkogenik RAS mutasyonları tüm kanserlerin %30'unda gösterilmiştir. Bunların %85'ini KRAS, %15'ini NRAS ve kalan <%1'lik kısmını ise NRAS oluşturur (Downward 2003). KRAS mutasyonunun tümör karsinogenezinin erken aşamalarında görülmesi kanseri nedeni olabileceğini düşündürmüştür. KRAS mutasyonları kolon kanserinde ve birçok kanserde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (Phipps ve ark 2013). KRAS mutasyonu mevcut metastatik kolorektal kanserli hastalar panitumumab ve setuksimab gibi anti-epidermal büyüme faktörü

reseptörü hedefli ajanlara dirençlidirler (Amado ve ark 2008). KRAS mutasyonları kolorektal kanserli hastaların yaklaşık %40'ında görülmektedir (Bos ve ark 1987).

Mikrosatellite instabilite (MSI) yolağı

Genomik instabilitenin farklı bir türü olan MSI, sporadik kolorektal kanserli hastaların %15'inde görülmektedir. Kolon kanserli hastaların %4-5'inde izlenen herediter nonpolipozis kolorektal kanser sendromunda ise germline olarak görülmektedir. Mikrosatellitler birden beşe kadar baz çiftinden oluşan tekrarlayan DNA dizileridir. MSI fenotipi görülen hastalarda yüksek oranda replikasyon hatası, özellikle DNA polimerazın kaymasına bağlı olarak tekrarlayan DNA dizileri olduğu gösterilmiştir. (Boland ve Goel 2010).

Bethesda kılavuzuna göre MSI durumu PCR ile 5 mikrosatellite markırın değerlendirildiği bir panel ile ortaya konabilir. Bunlar iki mononükleotid (BAT 25 ve BAT 26) ve üç dinükleotid (D2S123, D5S346 ve D17S250) markırdan oluşmaktadır. Bu beş markırla yapılan değerlendirmede >%30'dan fazla (en az iki) mikrosatellite markırın varlığı MSI-H (High-Yüksek) olarak kabul edilmektedir. Mikrosatellite markırın varlığı <%30 ise bu durum düşük mikrosatellite instabilite (MSI-L) olarak değerlendirilir. Markırların hiçbiri yoksa mikrosatellite stabil (MSS) durum söz konusudur (Boland ve ark 1998).

Günümüzde MSI durumu replikasyon sonrası DNA MMR eksikliği ile ilişkilendirilmiştir. MLH1, MSH6, MSH2, PMS2 gibi MMR genlerindeki mutasyonların neden olduğu replikasyon hataları MSI oluşumuna neden olmaktadır (Grady ve Carethers 2008). MMR genlerindeki mutasyonları (dMMR) ve MSI-H olan kolon kanserlerinin PD-1 inhibitörleri gibi kontrol noktası inhibitörleri ile yapılan immünoterapilere diğer kolon kanseri biyolojik alt tiplerine göre çok daha iyi yanıt verdiği bilinmektedir.

CpG island methylator phenotype (CIMP) yolağı

Kolorektal kanserde tümör oluşumu, genetik ve epigenetik değişiklikleri içeren çok aşamalı ve karmaşık bir süreçtir. Epigenetik değişiklikler, DNA dizisinde

değişiklik yapmadan gen ekspresyonundaki değişiklikleri ifade eder. Epigenetik değişiklikler transkripsiyonel genlerin susturulmasına veya DNA onarım genlerinin ve tümör baskılayıcı genlerin etkisizleştirilmesine yol açar (Bonasio ve ark 2010). Son yıllarda giderek daha fazla çalışma, DNA metilasyonu, histon modifikasyonu, nükleozom lokalizasyonu ve küçük kodlamayan RNA'lar vb. dahil olmak üzere epigenetik değişikliklerin kolorektal kanserin tümör oluşumunda anahtar rol oynadığını göstermektedir (Okugawa ve ark 2015).

DNA metilasyonu esas olarak sitozin kalıntılarının CpG dinükleotidlerinin beşinci karbon pozisyonunda meydana gelir. CpG sitozinlerinin yaklaşık %60-80'i insan somatik hücrelerinde metillenir, ancak CpG adaları, çoğunlukla yapısal olarak metillenmemiş olan promotör genlerin transkripsiyon başlangıç bölgesinin yakınında yer alan yüksek frekanslı CpG bölgelerine sahip bölgelerdir. Toyota ve arkadaşları ilk defa 1999 yılında CpG ada metilatör fenotipi (CIMP) için pozitif olan ve kolon kanseri dokularındaki bazı spesifik CpG adaları dizisinde çok sayıda kansere özgü gen promoter DNA hipermetilasyonunu kapsamlı bir şekilde sergileyen yeni bir kolorektal kanser biyolojik alt kümesi olduğunu gösterdi (Toyota ve ark 1999). CIMP günümüzde, kolon kanserinin oluşumundaki serrated neoplazi yolunun ilk başlangıç nedeni olarak durmakta ve sporadik kolorektal kanserlerin ayrı bir moleküler alt tipi olarak kabul edilmektedir (Advani ve ark 2019). CpG adası metilatör fenotipine (CIMP), transkripsiyonla etkisiz hale getirilen tümör baskılayıcı genlerin promotörle ilişkili CpG açısından zengin bölgelerinde hipermetilasyonu teşvik eden ve CRC'nin gelişmesine ve ilerlemesine yol açan DNA metiltransferazlar (DNMT'ler) aracılık eder (Miranda Furtado ve ark 2019).

1.2. Tümör İmmünolojisi

Bağışıklık sistemi kanser hücrelerine iki şekilde yanıt verebilir: tümöre özgü antijenlere (kansere hücrelerine özgü moleküller) veya tümörle ilişkili antijenlere (kansere hücreleri ve normal hücreler tarafından farklı şekilde ifade edilen moleküller) karşı reaksiyona girerek yanıt oluşturabilir. Birçok tümör hücresi antijen üretir. Bu antijenler hücre yüzeyinde kalabildiği gibi kan dolaşımına da salınabilir. İmmün sistemin önemli bir fonksiyonu da bu antijenlerin tanınması ve bu sayede tümör hücrelerini ortadan kaldırma sürecinin başlatılmasıdır (Gonzalez ve ark 2018).

Normal ve neoplastik hücrelerin proteozomları, proteinleri kısa peptitlere ayırır ve antijen sunan hücreler üzerindeki majör doku uyumluluk kompleksi (MHC) sınıf I molekülleri, bu peptitleri sitotoksik CD8 T hücrelerine sunar. Mutasyona uğramış genlerin veya anormal şekilde eksprese edilen kanser hücresi proteinlerinin ürünlerinden türetilen peptitler de T hücrelerine sunulabilir (Rock ve Shen 2005). Karsinogenler aracılığıyla onkogenlerde veya tümör supresör genlerde değişiklikler oluşabilir. Bunun sonucunda ya doğrudan yeni bir protein sekansı oluşur ya da normalde eksprese edilmeyen veya az miktarda eksprese edilen proteinlerin miktarında artış gerçekleşir.

Kazanılmış bağışıklık sisteminin temel fonksiyonlarının arasında transforme olmuş hücrelerin büyümesini engellemek veya bunlar zararlı hale gelmeden bunları yok etmek vardır. Bu işleme, kanserin immün gözetimi denilmektedir. Bu yapılan işlemin tümörlerin büyümesine engel olduğunu gösteren birçok kanıt vardır. Örneğin, tümörlerin çevresinde lenfositik bir infiltrasyon varsa ve de yakında bir lenf nodu büyümesi söz konusu ise bu tip tümörler genelde daha iyi prognoz gösterirler. Kanserın immün şekillendirilmesi, immün sistemin konağı tümör gelişiminden koruduğı ve yüksek derecede immünojenik tümör hücrelerini elimine ederek tümörlerin somatik evrimine neden olduğı bir süreçtir. İmmün şekillendirme, oldukça immünojenik olan tümör antijenleriyle indüklenebilir ve tümör hücrelerinin CD8⁺ T hücre aracılı eliminasyonunu içerir.

Kanserın immün şekillendirilmesi üç farklı sürecin sonucunda ortaya çıkmaktadır: Bunlara kanserin üç “E”si adı verilmiştir (Kim ve ark 2007).

Eliminasyonun ilk fazında, solid tümör belli bir büyüklüğe ulaştığı zaman invaziv olarak büyümeye başlayacak ve daha fazla kanlanmaya ihtiyacı olacaktır. Anjiojenik proteinlerin yapımı başlayacaktır. İnvaziv büyüme, çevre dokuda minör hasarlara ve dolayısıyla inflamatuvar bir cevabın oluşumuna neden olacaktır. İmmün hücreler olan doğal öldürücü T hücreler (natural killer T; NKT), doğal öldürücü hücreler (natural killer; NK), T hücreleri, makrofajlar ve dendritik hücreler bu alanda yığılacaktır. Bu hücrelerden interferon gamma (IFN- γ) üretimi başlayacaktır.

İkinci fazda IFN- γ , antiproliferatif ve apoptotik etkileriyle sınırlı oranda tümör hücrelerinin ölümüne neden olacak ama aynı zamanda hem tümör hücrelerinden hem de çevredeki normal dokudan CXCL10, CXCL9 ve CXCL11 gibi kemokinlerin salıverilmesini uyaracaktır.

Eliminasyonun üçüncü fazında, tümörü infiltre eden NK ve makrofajlar birbirlerini uyararak daha fazla interlökin 12 (IL-12) ve IFN- γ salıverilmesine neden olur ve tümör nekrotize edici faktör (TNF) ile ortaya çıkan apoptosisi arttıran ligand, perforin, reaktif oksijen ve nitrojen araçları vasıtasıyla daha fazla tümör hücresi ölümüne neden olur. Dokuyu drene eden lenf düğümlerine ulaşan dendritik hücreler, tümöre özgül tip 1 yardımcı T hücrelerini (CD4⁺, TH1) uyarırlar ve tümöre özgül CD8⁺ T hücrelerinin oluşumuna yardımcı olurlar. Dördüncü fazda tümöre özgül CD8⁺ ve CD4⁺ T hücreleri tümörün bulunduğu alana giderek lokal sentezlenen IFN- γ tarafından immünojenitesi arttırılmış antijen taşıyan tümör hücrelerini öldürürler.

Equilibrium (denge) sürecinde, konağın immün sistemi ve eliminasyon işleminden kurtulan herhangi bir tümör varyantı dinamik bir dengeye ulaşır. Bu süreç tümör immünolojisi için daha yeni tanımlanmış bir süreçtir. Lenfositler ve IFN- γ , genetik olarak stabil olmayan ve hızla mutasyon geçiren tümör hücreleri üzerine potent bir seçilme baskısı oluşturur.

Escape (kaçış) sürecinde, genetik veya epigenetik değişimler sonucu immünolojik tepite ve ortadan kaldırılmaya duyarız hale gelen tümör varyantları kontrolsüz bir şekilde çoğalmaya başlarlar. Bu durum, klinik olarak gözlenebilen malign hastalığın ortaya çıkışına ve tedavi edilmezse konağın ölümüne neden olur. Tümör, antijenlerini kaybederek immün sistem tarafından tanınamaz hale gelir. Ayrıca, IFN- γ reseptörleri veya bu reseptörle ilişkili sinyal yolu moleküllerinde de kayıplar söz konusu olur ve bu nedenle tümör antiproliferatif ve apoptotik sinyalleri almaz. Tümörün kendisi, Transforming Growth Factor β (TGF- β), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Prostaglandin E2 (PGE2), interlökin-10 (IL-10), COX2 gibi immün sistemi baskılayıcı bir grup medyatörü salgılamaya başlar. TGF- β , lenfosit proliferasyonunu durdurur. Tümör çevresinde bulunan dendritik hücrelerin matürasyonu engellenir. İmmatür dendritik hücreler, etkili bir antijen sunumu gerçekleştiremedikleri gibi bu hücrelerin T hücrelere antijen sunumu sonucunda

aktivasyon yerine anergi gelişir ve efektör T hücreler regülatuar T hücrelere dönüşür. Ortama salınan IL-10 gibi sitokinler, IL-12 yapımını durdurduklarından, tümöre karşı immün cevapta etkili olan TH1 yanıtının TH2 (tip 2 yardımcı T hücreler) yanıtına dönüşümüne neden olur ve bu da tümöre karşı etkili savaşı engeller. Tümör mikroçevresinde bulunan sitokinler, tümör alanına regülatuar hücrelerin gelmesine veya tümör alanındaki efektör hücrelerin regülatuar forma dönüşmesine de neden olurlar. Bunlardan en iyi bilineni regülatuar T hücrelerdir. Regülatuar T hücreler, salıverdikleri IL-10 ve TGF- β gibi sitokinlerle tümöre karşı oluşacak olan efektör T hücre cevabının bastırılmasına neden olurlar.

Yabancı antijenlere karşı immün cevaplar; hüморal (antikor) ve hücreyel mekanizmalardan oluşmaktadır. Birçok hüморal cevap tümör büyümesini önlemede yetersizdir. Ancak T hücreler, makrofajlar ve doğal öldürücü hücreler gibi efektör hücreler göreceli olarak etkili tümör elimine edici özelliklere sahiptirler. Zaten tümörlere karşı konak yanıtlarının en güçlü ve faydalı olduğu aşama, yukarıda anlatılmış olan kanserin immün şekillendirilmesinin “eliminasyon” sürecidir. Efektör hücre aktivitesi, antijen sunucu hücreler tarafından hücre yüzeyinde tümör antijenlerinin sunulması ile indüklenir.

T hücreler, tümör hücrelerinin direk tanınması ve öldürülmesinden sorumlu primer hücrelerdir. T hücreler tümör antijenlerini tanıdıktan sonra proliferasyon olup yeni transforme olmuş tümör hücrelerini yok ederler. Tümörlere karşı T hücre yanıtları, immün sistemin diğer hücreleri tarafından düzenlenir. Bazı hücreler, tümör hücrelerinin ölümüyle sonuçlanan etkileşime başlayabilmek için tümör hücrelerine karşı antikorların varlığına ihtiyaç duyarlar (antikor bağımlı hücreyel sito toksisite). Öbür taraftan, baskılayıcı T hücreler, tümörlere karşı immün yanıtları da baskılayabilmektedir. Sitotoksik T lenfositler, hedef hücrelerdeki antijenleri tanıyarak bu hücreleri lizise götürürler. Bu antijenler hücre yüzeyindeki proteinler veya intraselüler proteinler (tümör antijenleri) olabilir. İntraselüler proteinler, tip I MHC kompleksi aracılığıyla yüzeyde ekspresyon edilirler.

Doğal öldürücü hücreler, tümörisidal aktiviteye sahip bir başka efektör hücre popülasyonudur. Sitotoksik T lenfositlerin aksine doğal öldürücü hücrelerde antijen tanıma reseptörü eksiktir ama yine de virüsle enfekte normal hücreleri ve kanser

hücrelerini tanıyabilmektedirler. Tümörisidal aktiviteleri “doğal” olarak ifade edilmiştir çünkü spesifik bir antijen tarafından indüklenmezler. Normal hücrelerin yüzeyindeki tip I MHC molekülleri, doğal öldürücü hücreleri inhibe ederek lizisi önlemektedir. Bu nedenle, birçok tümör hücresinin azalmış tip I MHC molekül ekspresyon özelliği, doğal öldürücü hücre aktivasyonuna yol açmakta ve tümör hücre lizisiyle sonuçlanmaktadır.

İmmün hücreler tarafından üretilen lenfokinler, diğer immün hücreleri uyarırlar. Bu lenfokinler arasında IL-2 (T hücre büyüme faktörü) ve interferonlar bulunur. IL-12, dendritik hücreler tarafından üretilir ve özellikle T lenfositleri uyarır. Bu sayede anti-tümör immün yanıtları güçlendirir.

Tedavi amaçlı olarak immün sistemin aktive edilmesi önemli bir yaklaşımdır. En belirgin sonuçlar, immün denetim noktalarından sitotoksik T lenfosit ile ilişkili protein 4 (CTLA-4) ve programlı hücre ölüm proteini 1 (PD1) ve onun ligandı PD-L1'i baskılamak amacıyla geliştirilen monoklonal antikolarla sağlanmıştır. Bu antikolar, immün denetim noktalarını baskılayarak T hücre aktivasyonunun devamlılığını ve tümöre karşı immün yanıtın etkin bir şekilde ortaya çıkmasını sağlamaktadır.

Kanser immünoterapisinin temel hedefi, tümöre karşı efektörler oluşturmak (antikolar veya T hücreleri gibi); hastaları kendi tümörlerine karşı aktif olarak immünize etmek ve hastanın tümöre karşı olan kendi bireysel cevabını uyarmaktır. Adaptif anti-tümör yanıtlar için, tümöre özgü T hücreleri antitümör immünitinin önemli efektörleridir ve tümörlerin T hücreleri tarafından infiltrasyonu iyi prognozun bir göstergesidir (Gentles ve ark 2015). Farklı tümör tiplerinde T hücrelerinin birçok alt tipi arasında, CD8⁺ T hücresi yanıtı CD4⁺ Th1 ve Th17 yardımcı T hücre popülasyonları ile desteklenmesi gereken etkili bir anti-tümör immün yanıt için en yaygın kabul gören gerekliliktir (Martin-Orozco ve ark 2009).

Anti-tümör immün yanıtların inhibisyonunun bir yolu olarak, programlanmış ölüm-ligand 1 (PD-L1) güncel bir örnektir. PD-L1 negatif düzenleyici bir ligandır. Programlanmış ölüm-1'e (PD-1) bağlanan B7 ailesi reseptörünü aktive eder ve T hücresini inhibe eder (Riley 2009). Adaptif bağışıklık tepkileri özellikle onkogen

bağımlı tümörlerde araştırılmıştır, çünkü bağışıklığın bu kompartımanı sistemin hem gelişiminde hem de tedavisinde önemlidir. Adaptif bağışıklık sisteminin onkogen bağımlı tümörlerde bir rolü olup olmadığı henüz kesin bir şekilde gösterilememiştir (Rakhra ve ark 2010).

1.2.1. T Hücre Alt Grupları

Bağışıklık sisteminin kilit bir bileşeni olan CD4 T hücreleri, adaptif bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde merkezi bir rol oynar. Beş ana CD4 T yardımcı hücre (Th) alt kümesi: Th1, Th2, Th17, Treg (T düzenleyici) ve Tfh (foliküler T yardımcı) hücreleri olarak tanımlanmıştır. İnterferon (IFN)- γ ve ana transkripsiyon faktörü T-bet ekspresyonu ile tanımlanan Th1 hücreleri, mikobakteriyel türler ve virüsler gibi hücre içi patojenlere karşı tip 1 bağışıklık yanıtlarına katılır; interlökin (IL)-4/IL-5/IL-13 ve ana transkripsiyon faktörü GATA3 ekspresyonu ile tanımlanan Th2 hücreleri, helmintler gibi daha büyük hücre dışı patojenlere karşı tip 2 bağışıklık yanıtlarına katılır; IL-17/IL-22 ve ana transkripsiyon faktörü ROR γ t ekspresyonu ile tanımlanan Th17 hücreleri, bazı bakteri ve mantarlar dahil olmak üzere hücre dışı patojenlere karşı tip 3 immün yanıtlara katılır; Tfh hücreleri, IL-21 üretmek ve Bcl6 ekspresyonunu ederek B hücrelerinin ilgili antikorları üretmesine yardımcı olur; Foxp3 ekspresyonunu eden Treg hücreleri ise, efektör işlevlerini yerine getiren Th1/Th2/Th17/Tfh'den farklı olarak, immün hücre homeostazını korumak ve immünopatolojiyi önlemek için immün yanıtları düzenler (Zhu ve Zhu 2020).

Th1 hücreleri, tip 1 makrofajları (M1) aktive ederek bakteri, virüs ve protozoa gibi hücre içi patojenlere karşı koruma sağlamak için tip 1 yanıtları indükler (Zhu ve ark 2010). Th1 hücreleri tarafından ifade edilen önemli bir kemokin reseptörü, patojen istilası ile iltihap bölgelerine doğru Th1 hücre göçünde önemli bir rol oynayan CXCR3'tür ve aynı zamanda insan Th1 hücrelerinin tanımlanması için yaygın olarak kullanılmaktadır (Bonecchi ve ark 1998). Th1 hücreleri tümör immünolojisinde rol oynayabilir. İlginç bir şekilde, Th1 tipi kemokinlerin epigenetik olarak susturulması, tümörlerin yeni bir immün-kaçış mekanizması olarak bildirilmiştir (Peng ve ark 2015).

Th2 hücreleri, IL-4 üreten T hücreleri olarak tanımlanmıştır. Th2 hücreleri esas olarak helmintler gibi büyük hücre dışı patojenlere karşı konak savunmasında yer alır. Naif CD4 T hücreleri DC'lerden sinyal aldıktan sonra aktivasyonlarının ardından Th2 hücrelerine farklılaşabilir (Gurram ve Zhu 2019). Farklılaşmış Th2 hücreleri IL-4, IL-5 ve IL-13 dahil olmak üzere farklı sitokinleri salgılar. Klasik bir tip 2 immün yanıt sırasında, IL-4 B hücre antikör sınıfının immünoglobulin E'ye (IgE) geçişini teşvik eder, IL-5 eozinofiliyi inflamasyon bölgelerine toplar ve IL-13 mukus üretimini ve goblet hücre hiperplazisini teşvik eder (Gurram ve Zhu 2019). Th2 hücreleri için ana transkripsiyon faktörü olan GATA3, Th2 hücre farklılaşmasında ve işlevlerinde önemli bir rol oynar (Zhu 2018).

Th17 hücreleri, hücre dışı bakteri ve mantarlara karşı savunmada tip 3 bağışıklık yanıtları için önemlidir; ayrıca patojenik etkileri nedeniyle multipl skleroz gibi birçok otoimmün hastalıkta rol oynadıkları bulunmuştur (Dolff ve ark 2019). Th17 hücre farklılaşması, pırmir immün yetmezlik bozukluğu olan hiper-IgE sendromlu birçok hastada mutasyona uğramış olarak bulunmuştur (Holland ve ark 2007). Bu hastalar, bozulmuş Th17 hücreleri nedeniyle *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida albicans* ve diğer mantarlar gibi bakteriler tarafından enfekte olmaya karşı yüksek duyarlılığa sahiptir. DOCK8'deki mutasyonların hiper-IgE sendromuna neden olabileceği gösterilmiştir ve bu tür mutasyona sahip hastalarda Th17 hücrelerinde eksiklik vardır (Zhang ve ark 2009).

Düzenleyici T hücreleri negatif seleksiyon sırasında timusta gelişebilir ve bu Treg hücreleri timik kaynaklı Treg (tTreg) hücreleri olarak adlandırılır. tTreg hücreleri, öz antijenleri tanıyarak, immün toleransı korumak için negatif seleksiyondan kaçan öz reaktif efektör T hücrelerini esas olarak kontrol eder (Shevach ve Thornton 2014). Sitokinler, özellikle IL-2 ve TGF- β , Treg hücrelerinin gelişimi ve farklılaşması sırasında önemli roller oynar. IL-2 ve TGF- β sırasıyla STAT5 ve SMAD2/3'ü aktive ederek Foxp3 ekspresyonunu teşvik eder (Takimoto ve ark 2010).

Tfh hücreleri yaklaşık yirmi yıl önce fark edilmiş, ancak ana transkripsiyon faktörü Bcl6 tanımlandığında germinal merkezlerin (GC'ler) oluşumu için gerekli olan CD4 T hücrelerinin farklı bir soyu olarak kabul edilmiştir (Yu ve ark 2009). Tfh

hücreleri esas olarak lenf düğümleri ve dalaktaki B hücre foliküllerinde bulunur, bu nedenle B hücrelerine antikor üretimi ve afinite olgunlaşmasında yardımcı olur (Vinuesa ve ark 2016). Tfh hücreleri etkili uzun ömürlü koruyucu antikor yanıtlarının oluşturulması için kritik öneme sahip olduğundan, Tfh işlevlerinin düzensizliği inflamasyon, otoimmünite, alerji ve kanser gibi çeşitli hastalıklarda kaydedilmiştir (Crotty 2019).

Th9 hücresi, dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF- β) ve interlökin-4 (IL-4) tarafından indüklenen ilk CD4⁺ T hücrelerinden farklılaşabilen ve karakteristik olarak IL-9 salgılayan CD4⁺ T hücrelerinin yeni bir alt grubudur (Ma ve ark 2010). Son yıllarda, Th9 hücreleri ve ilgili fonksiyonel faktörlerinin enflamatuar hastalıklar, otoimmün hastalıklar, tümörler ve diğer ilgili klinik hastalıklarda önemli rol oynadığı bulunmuştur. Meme kanseri hastalarının kanındaki Th9 hücrelerinin artışının IL-21 ekspresyonu yoluyla CD8⁺ T hücrelerinin sitotoksitesini teşvik edebileceğini ve daha sonra antitümör bağışıklığa katılabileceğini bulunmuştur (You ve ark 2017).

CD8⁺ T hücreleri kanser hücrelerini seçici olarak tespit etme ve yok etme yeteneğine sahiptir. Tümörler, tümöre özgü (mutant ve viral) neoantijenleri içeren antijenlerin sunumunu yaparlar. Tümör kaynaklı CD8⁺ T hücre disfonksiyonunun daha önce kanser gelişimi sırasında geç dönemde ortaya çıktığı ve yerleşik solid tümörlerin immünosupresif TME'si tarafından indüklendiği düşünülüyordu (Anderson ve ark 2017). Hastalarda, tümörigenez sırasında tümöre özgü T hücrelerinin ne zaman ve nasıl hiporesponsif bir duruma farklılaştığı ve bu durumun zaman içinde nasıl geliştiği tam olarak anlaşılammıştır. Klinik olarak ilgili genetik fare modellerinden ve insan kanserlerinden elde edilen kanıtlar, onkojenik ve tümör baskılayıcı yolakların ve köken alınan dokunun, CD8⁺ T hücreleri de dahil olmak üzere doğal ve adaptif bağışıklık hücresi aktivasyonunu ve fenotiplerini şekillendirebileceğini göstermektedir (Spranger ve Gajewski 2018). Erken tümörigenez sırasında tümöre özgü CD8⁺ T hücresi ve CD4⁺ T hücresi yanıtlarının üretken bir şekilde hazırlanması için, yeterli kanser hücresi ölümü ve/veya antijen salınımı ve antijen sunumu gereklidir.

Tümöre özgü T hücresi farklılaşması iki aşamada gelişir: tümör gelişimi sırasında erken dönemde T hücreleri, CD4⁺ T hücresi yardımı olmadan enflamatuar olmayan bir bağlamda antijenlerle karşılaştıklarında alerji benzeri erken işlevsiz bir

duruma girer (faz 1). Bu hiporesponsif durum kanser hücrelerinin büyümesine izin verir. Kanser ilerlemesiyle birlikte, T hücreleri tümör antijenleri tarafından sürekli olarak uyarılır ve geç işlevsiz duruma girer (faz 2). Kronik antijen-TCR uyarımı T hücresi tükenmesinin itici gücü olduğundan, yüksek oranda ifade edilen tümör antijenlerine özgü geç işlevsiz T hücreleri, kronik enfeksiyonda patojene özgü T hücreleri ile birçok fenotipik, moleküler ve epigenetik özelliği paylaşır. İlk çalışmalar, hastalarda dolaşımdaki lenfositlerin proliferasyonunun artmasının daha iyi immünoterapi yanıtlarını öngördüğünü ve kanserli hastaların periferik kanında T hücrelerinin klonotipik genişlemesinin anti-PDL1'e klinik yanıtı öngördüğünü ortaya koymuştur (Wu ve ark 2020). CD8⁺ T hücrelerinin tümörleri ortadan kaldırmak için birden fazla yolu vardır ve doğrudan kanser hücrelerini veya dolaylı olarak tümör stromal hücrelerini hedef alabilirler. İnsan kanserlerinde hangi mekanizmanın ya da mekanizmaların en uygun olduğu, farklı tümörlerin ve T hücrelerinin farklı mekanizmalar kullanıp kullanmadığı yeterince bilinmemektedir.

Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) kanser hücre proliferasyonu için önemli role sahiptir. Antitümör bağışıklığa karşı direnç, EGFR yolu da dahil olmak üzere insan kanserlerinde faaliyet gösteren onkojenik yollar tarafından desteklenebilir. Glikozun hücre membranı boyunca difüzyonunu kolaylaştıran Glut1, glikoliz işlemi sırasında aktive T lenfositlerinde yer alan önemli bir enzimdir. LDHA enzimatik aktivitesi, Warburg metabolizmasını indükleyerek insan CD4⁺ T hücreleri tarafından IFN- γ üretimini sürdürmek için gereklidir. EGFR'nin Glut1 güdümlü laktat alımında kritik bir rol oynadığını ve CD4⁺ T hücrelerinin proinflamatuvar yanıtını desteklediği gösterilmiştir (Huang ve ark 2023). Fare CD4⁺ T hücreleri EGFR eksprese etmiş ve EGFR tirozin kinaz inhibitörü AG-1478 in vitro T hücre proliferasyonunu ve Th1/Th2 sitokin üretimini bloke etmiştir (Zeboudj ve ark 2018). İnsan kan T hücreleri EGFR eksprese ettiği gösterilmiş ve EGFR inhibisyonu T hücre proliferasyonunu hem in vitro hem de in vivo olarak azaltmıştır. CD4⁺ T hücrelerinde EGFR'nin seçici olarak silinmesi, hem in vitro hem de in vivo T hücresi çoğalması ve aktivasyonunun yanı sıra interferon- γ , interlökin-4 ve interlökin-2 üretiminin azalmasıyla sonuçlanmıştır. Kolon kanserinde T hücre alt gruplarında EGFR ekspresyon durumunu gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ailesi beş üyeden oluşur: VEGFA, VEGFB, VEGFC, VEGFD ve plasenta büyüme faktörü (PlGF). VEGF'ler VEGFR-1, VEGFR-2 ve VEGFR-3 olarak adlandırılan üç farklı ancak yapısal olarak ilişkili tirozin kinaz reseptörüne bağlanır. VEGFR-2 tercihen kan vasküler endotel hücrelerinde eksprese edilirken, VEGFR-3 öncelikle lenfatik endotel hücrelerinde eksprese edilir. VEGFR-1 bir dizi endotel dışı hücrede ifade edilir ve lökosit hareketliliğinin düzenlenmesi için gereklidir (Ferrara 2002). Tüm VEGFR'ler, ligand bağlama bölgesini oluşturan yedi immünoglobulin (Ig) homoloji alanı ve sinyali ileten tirozin kinaz (TK) aktivitesi ile donatılmış bir hücre içi bölge içerir. Aşağı akış sinyali, fosfolipaz C γ 'in aktivasyonunu, Ras/Raf1 aktivasyonu yoluyla MAPK yolunu ve PI3K/Akt yolunu içerir. VEGF sinyali T-hücre gelişimini, homing ve sitotoksik işlevlerini doğrudan etkiler (Yang ve ark 2018). VEGF/VEGFR-2 ayrıca CD3⁺ T-hücrelerini ve sitotoksik etkileri de baskılar (Gavalas ve ark 2012). Ayrıca kolon kanseri hücrelerinde VEGFA, programlanmış hücre ölümü protein-1 (PD-1) reseptörleri gibi negatif immün kontrol noktalarının ekspresyonu ile karakterize edilen CD8⁺ T-hücre tükenmesine katkıda bulunur (Kim ve ark 2019). Bevacizumab VEGFA'yı bağlayarak VEGFA'nın vasküler endotelyal hücreler, endotelyal progenitor hücreler ve megakaryositler üzerinde VEGFR-2 ile etkileşime girmesini önler. Metastatik kolorektal kanserli hastalarda bevacizumab tedavisi B ve T hücrelerinde artışa neden olur (Manzoni ve ark 2010). VEGF, dendritik hücrelerde programlanmış ölüm-ligand 1'i (PD-L1) ekspresyonunu artırarak T-hücre genişlemesinin ve işlevinin engellenmesine neden olur (Curiel ve ark 2003). VEGFR'nün T hücre alt gruplarında ekspresyonu ile yeterli çalışma bulunmamaktadır.

Kolon kanserli hastalarda immün sistemin farklı prognostik alt gruplarda nasıl etkilendiğini ortaya koyan bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Kolon kanseri için önemli yolaklar olan VEGFR ve EGFR'nin lenfositler üzerindeki ekspresyonu ve bunun diğer prognostik faktörlerle ilişkisi bilinmemektedir. Kolon kanserli hastalarda yardımcı T hücre-1 (Th1), yardımcı T hücre-2 (Th2), yardımcı T hücre-17 (Th17), foliküler T hücre (Tfh), sitotoksik T hücre (STL) gibi T hücre alt gruplarının oranları belirlenmesi ve bu yardımcı T hücre alt gruplarında yüzey VEGFR ve EGFR ekspresyon oranlarının saptanması ile önemli bilgiler elde edilecektir. Böylece kolon

kanseri için bu lenfosit alt gruplarının prognostik rolü araştırılacak ve farklı prognostik alt gruplardaki T hücre oranları ortaya konacaktır.

Bu çalışma, kolon kanserli hastalarda dolaşan T hücre alt grupları arasındaki VEGFR ve EGFR ekspresyon farklılığını ortaya koymak için yapılmıştır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Olgular

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Kliniği'ne ilk defa başvuran ve daha önce kemoterapi almamış 18 yaş üstü klinik - patolojik inceleme ile Kolon kanseri tanısı almış 52 hasta çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu olarak hastalar ile yaş uyumlu, kronik/metabolik hastalığı ve klinik enfeksiyonu olmayan 30 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Hasta ve gönüllülerden Bilgilendirilmiş Onam formu imzası alındı. Kolon kanserli hastaların ve kontrol grubunun yaşı, cinsiyeti, hastaların başvuru anındaki demografik verileri, laboratuvar bulguları, tümör tipi, evreleri, metastaz durumu, tedavi öncesi performansları ve uygulanan tedaviler kaydedildi.

Hasta ve kontrollerden Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)'lı tüplere alınan kanlar Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İmmünoloji ve Allerji Laboratuvarında çalışıldı. Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından 2019/126 karar sayısı ile onaylandı ve Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 19202043 Proje numarası ile desteklendi.

2.2. Flow sitometrik Analizler

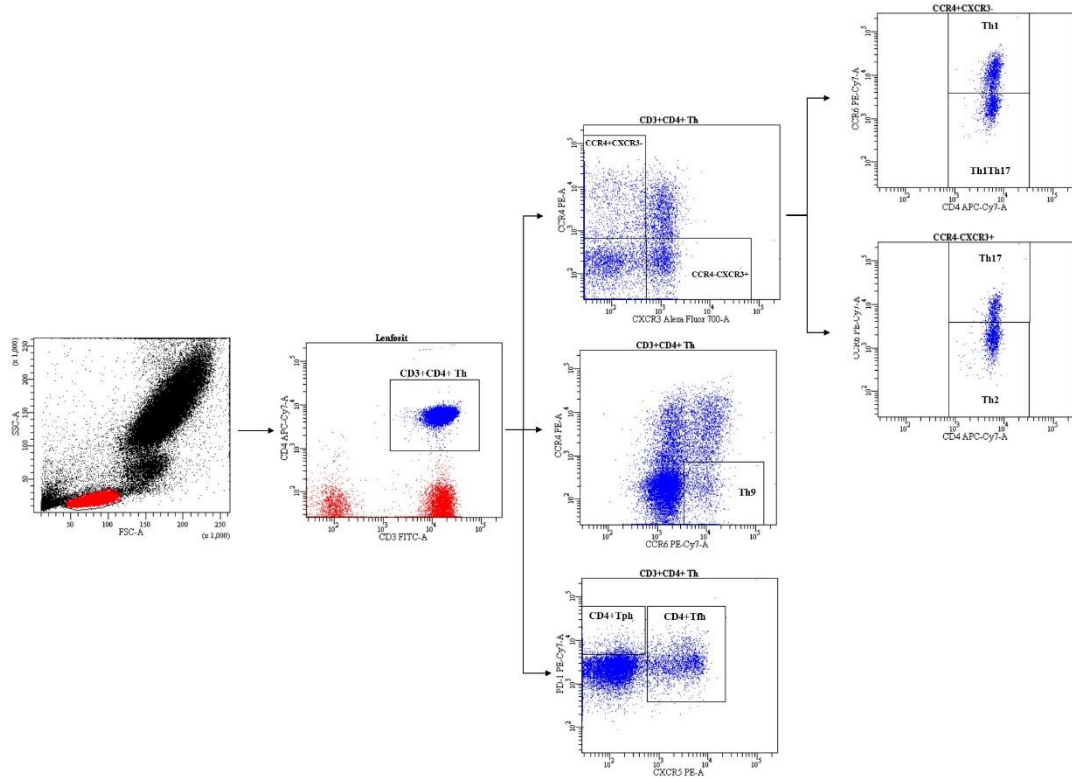
Yardımcı T lenfosit (Th) alt grupları (Th1, Th2, Th9, Th17, Th1Th17, CD4⁺ folüküler T hücre [Tfh], periferel T hücreler [Tph]) ve sitotoksik T lenfosit (STL) alt grupları (CD8⁺ Tfh ve Tph) ekspres ettikleri kemokin reseptörlerine göre floresanla işaretli monoklonal antikolarla tam kan lizis yöntemi kullanılarak belirlendi. Tüm lenfositler için CD3-FITC, Th'ler için CD4-APC/Cyanine7 ve STL'ler için CD8-Alexa fluor 700 monoklonal antikoru kullanıldı. Th1, Th2, Th17, Th1Th17 alt gruplarının belirlenmesinde CD183-Alexa fluor 700 (CXCR3), CD194-PE (CCR4), CD196-PE/Cy7 (CCR6) monoklonal antikoları; Tfh ve Tph'lerin belirlenmesinde ise CD185-PE (CXCR5) ve CD279a-PE/Cy7 (PD-1) monoklonal antikoları kullanıldı. Th alt gruplarında EGFR ekspresyonu için EGFR-APC; VEGFR ekspresyonu için VEGFR-PerCP Cy5.5 belirteci kullanıldı.

100µL kan üzerine monoklonal antikorlardan prosedürde yazan miktarlarda eklendi ve karanlıkta oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edildi. Kırmızı kan hücrelerini uzaklaştırmak amacıyla tüplere 2 ml lysing solüsyonu eklenerek 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Tüpler 1500 rpm de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı ve 2 ml yıkama solüsyonu eklenerek 1500 rpm de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı ve dipte kalan hücre pelleti 500 µl yıkama solüsyonu ile süspanse edildi. Hücreler 10 renkli BD FACS Aria III akım sitometri cihazında (BD Biosciences, Pharmingen, San Jose, USA) okutuldu ve FACS Diva version 6.1.3 yazılım programında analiz edildi.

Akım sitometrik analizlerde CD3⁺ tüm T hücreler, CD3⁺CD4⁺ yardımcı T hücreler ve CD3⁺CD8⁺ sitotoksik T hücrelerinin yüzeylerinde CXCR3, CCR4, CXCR5, CCR6 ve PD-1 ekspresyonları yüzde ve ortalama floresan yoğunluğu (MFI) olarak belirlendi. T hücre alt grupları ise eksprese ettikleri bu yüzey belirteçlerine göre sınıflandırılarak yüzde oranları belirlendi. Öncelikle ileri saçılım (forward scatter-FSC) ve yana saçılım (side scatter-SSC) grafiğinde küçük ve granülsüz hücre popülasyonları lenfositler olarak kapılandı. Lenfositlerde CD3⁺CD4⁺ yardımcı T hücreleri (Th) kapılanarak Th1, Th2, Th19, Th17, Th1Th17 alt grupları eksprese ettikleri kemokin reseptörlerine (CXCR3, CCR4, CCR6) göre; foliküler ve periferik T hücreler ise CXCR5 kemokin reseptörü ve PD-1 ekspresyonlarına göre belirlendi (Tablo 2.1) (Şekil 2.1).

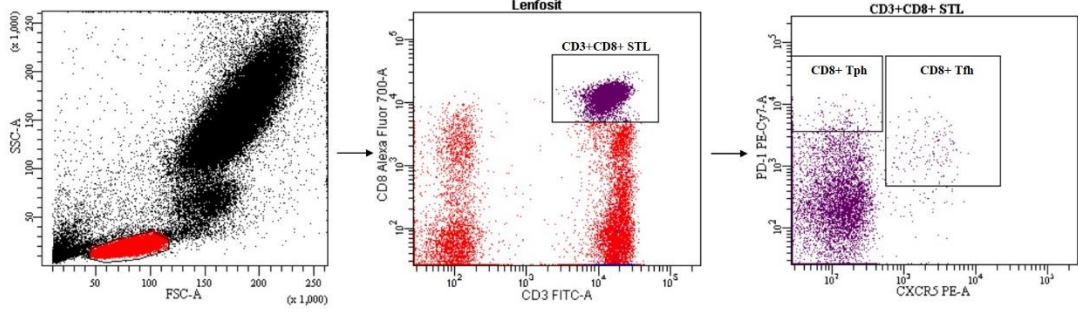
Tablo 2.1. Ekprese ettikleri hücre yüzey reseptörlerine göre T hücre alt gruplarının sınıflandırılması

T Hücre Alt Grupları	Monoklonal Antikorlar
Yardımcı T hücre	CD3 ⁺ CD4 ⁺
Th1	CXCR3 ⁺ CCR4 ⁻ CCR6 ⁻
Th2	CXCR3 ⁻ CCR4 ⁺ CCR6 ⁻
Th9	CCR4 ⁻ CCR6 ⁺
Th17	CXCR3 ⁻ CCR4 ⁺ CCR6 ⁺
Th1Th17	CXCR3 ⁺ CCR4 ⁺ CCR6 ⁺
CD4 ⁺ foliküler T hücre	PD1 ⁺ CXCR5 ⁺
CD4 ⁺ periferel T hücre	PD1 ⁺ CXCR5 ⁻
Sitotoksik T hücre	CD3 ⁺ CD8 ⁺
CD8 ⁺ foliküler T hücre	PD1 ⁺ CXCR5 ⁺
CD8 ⁺ periferel T hücre	PD1 ⁺ CXCR5 ⁻



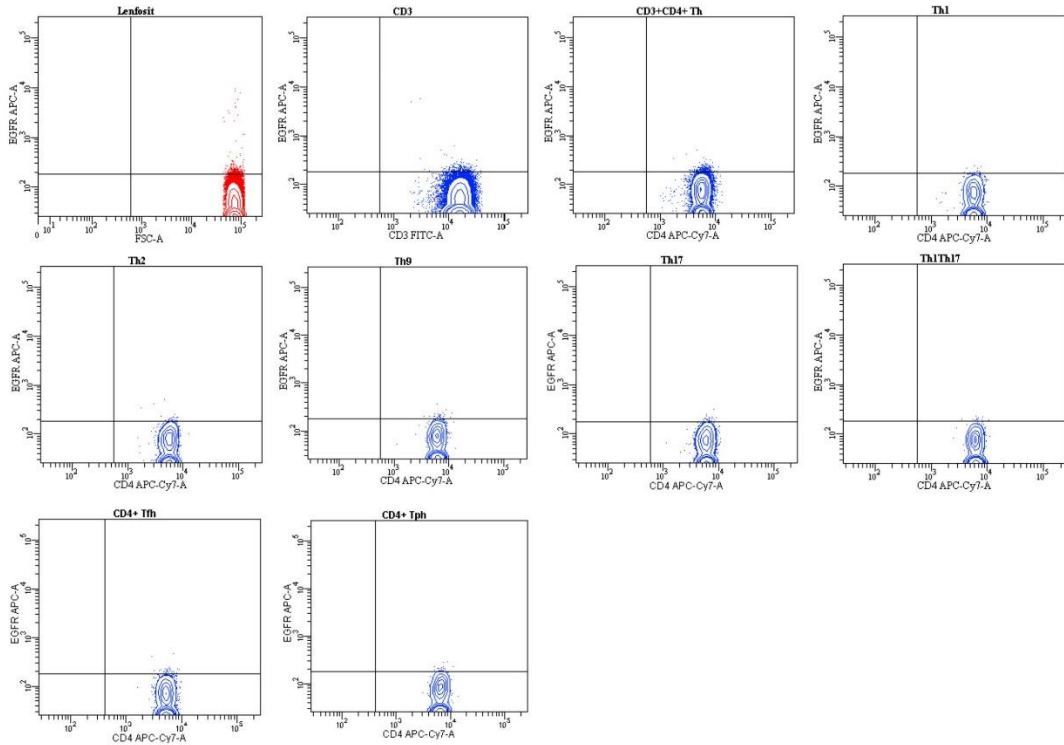
Şekil 2.1. CD4⁺ Th alt gruplarının akım sitometrik analizleri

Sitotoksik T hücreler ise lenfosit populasyonunda $CD3^+CD8^+$ olarak kapılındı ve bu hücrelerin alt grupları yüzey belirteçlerine göre foliküler ve periferall sitotoksik T hücreler olarak tanımlandı (Tablo 2.1) (Şekil 2.2).



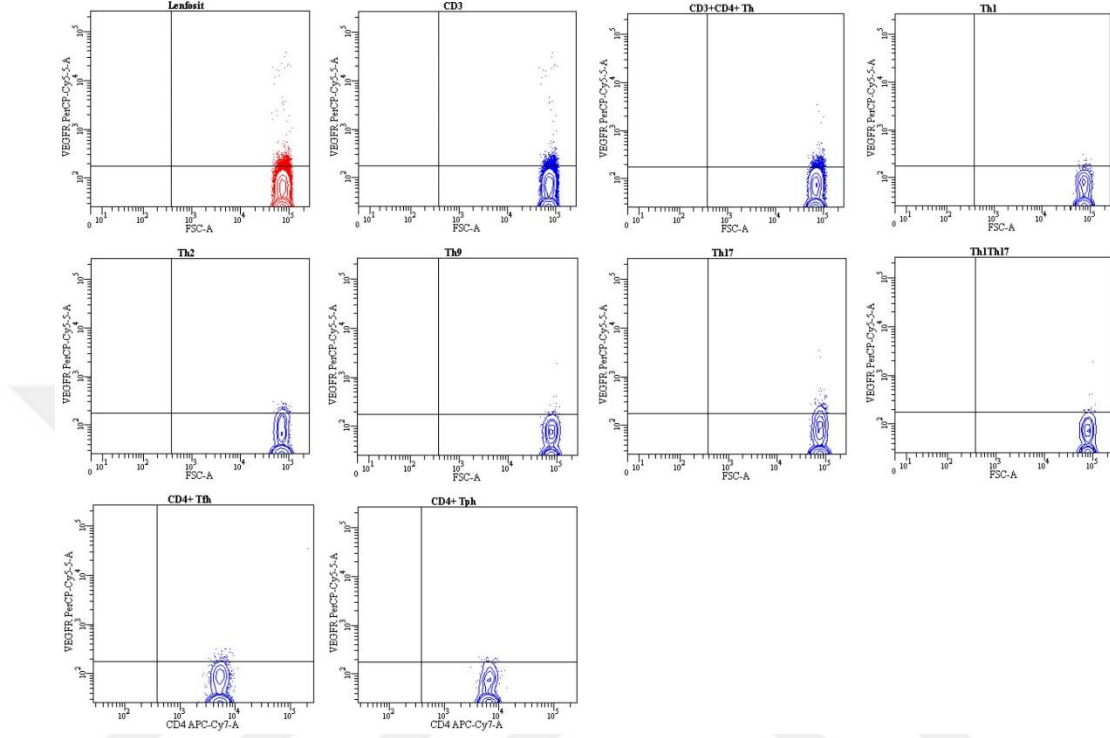
Şekil 2.2. $CD8^+$ STL alt gruplarının akım sitometrik analizleri

$CD3^+$ T hücre, yardımcı T ve sitotoksik T lenfositler ile bunların alt gruplarında EGFR yüzey ekspresyonları, yüzde ve ortanca floresan yoğunluğu (MFI) olarak belirlendi (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. T hücrelerinde EGFR ekspresyonlarının flow sitometrik analizleri

CD3⁺ T hücre, yardımcı T ve sitotoksik T lenfositler ile bunların alt gruplarında VEGFR yüzey ekspresyonları, yüzde ve ortanca floresan yoğunluğu (MFI) olarak belirlendi (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. T hücrelerinde VEGFR ekspresyonlarının flow sitometrik analizleri

2.3. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 21.0 paket programı ile yapıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla Kolmogrov-Smirnov normallik testi, varyansların homojenliğini belirlemek için ise Levene testi kullanıldı. Hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren verilerde Bağımsız İki Örneklem T testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise Mann Whitney U testi uygulandı. İki'den fazla grup arasındaki farklılığın değerlendirilmesinde; normal dağılıma uygun verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA), normal dağılım göstermeyen verilerde ise Kruskal-Wallis H testi kullanıldı. Fark görülen grupları karşılaştırmak için homojen varyanslı verilerde Post-Hoc testlerinden Bonferroni testi, homojen olmayan varyanslı verilerde ise Tamhane testi uygulandı. Korelasyon analizlerinde normal dağılım gösteren verilerde Pearson Korelasyon testi, normal dağılıma

uymayan verilerde ise Spearman Korelasyon testi kullanıldı. Sonuçlar $p < 0,05$ olması durumunda anlamlı kabul edildi.



3.BULGULAR

3.1. Demografik ve Klinik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen kolon kanserli olguların 30'u (%57,7) erkek, 22'si (%42,3) kadın olup, yaş ortalaması $63,17 \pm 10,93$ (36 – 82) idi. Kontrol grubunun ise 16'sı (%53,3) erkek, 14'ü (%46,7) kadın olup; yaş ortalaması $58,27 \pm 17,65$ (31 – 86) idi. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet ve yaş ortalaması açısından anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Hastalar TNM sistemine göre evrelendirildiğinde bir hasta (%1,9) evre I, 10 hasta (%19,2) evre II, 13 hasta (%25) evre III ve 28 hasta (%53,8) evre IV idi. Hastalar erken evre (Evre I, II ve III) ve ileri evre (Evre IV) olarak gruplandırıldı. Biyokimyasal testler, T hücre alt grupları ve T hücre alt gruplarında EGFR ve VEGFR2 ekspresyonları kolon kanserli hastalar-kontrol ve erken evre-ileri evre gruplarında istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

TNM sınıflandırma sistemi kullanılarak evrelerine göre sınıflandırılan hastalardan erken evrede (Evre I, II ve III) 24 hasta ve ileri evrede (Evre IV) ise 28 hasta vardı. Erken evre hastalar 11 erkek hasta ve 13 kadın hasta, ileri evre hastalar ise 19 erkek hasta ve 9 kadın hastadan oluşmaktaydı. Erken evre hastaların yaş ortalaması $61,50 \pm 10,58$ (38 – 82); ileri evre hastaların yaş ortalaması ise $64,61 \pm 11,20$ (36 – 82) idi. Gruplar arasında ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p = 0,33$, $p = 0,26$).

Kolon kanserli hastaların nötrofil/lenfosit oranı, CRP, LDH, CEA ve GIMA CA 19,9 seviyeleri normal sınırlara göre artmıştı. İleri evre hastalarda CRP, alkalen fosfataz, LDH, CA ve GIMA CA 19,9 seviyelerinde erken evre hastalara göre artış saptandı (sırasıyla, $p = 0,03$, $p = 0,04$, $p = 0,02$, $p = 0,00$, $p = 0,00$). Albumin/alkalen fosfataz oranı ise ileri evre hastalarda erken evre hastalara göre düşük izlendi ($p = 0,02$) (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Kolon kanserli hastaların laboratuvar verilerinin karşılaştırılması

Ortalama ± SS (min – maks)	Normal Değer	Tüm Hastalar (N = 52)	Erken Evre (n = 24)	İleri Evre (n = 28)	P
BKH (10 ³ /uL)	4 – 10	8,88 ± 2,66 (4,72 – 20,60)	8,27 ± 1,95 (4,72 – 12,51)	9,40 ± 3,08 (5,18 – 20,60)	0,22
HGB (g/dL)	12,1 – 17,2	12,85 ± 2,03 (6,50 – 16,20)	13,10 ± 2,10 (6,50 – 16,20)	12,64 ± 1,98 (9,10 – 15,70)	0,42
Lenfosit (%)	20,5 – 55,5	25,39 ± 9,60 (9,30 – 47,60)	27,83 ± 9,43 (10,00 – 47,60)	23,29 ± 9,40 (9,30 – 42,20)	0,09
Lenfosit Sayısı (10 ³ /uL)	0,8 – 5,5	2,19 ± 0,93 (0,69 – 4,58)	2,35 ± 1,07 (0,69 – 4,58)	2,06 ± 0,79 (0,85 – 3,65)	0,28
Monosit (%)	2,5 – 9	6,72 ± 1,63 (1,70 – 11,40)	6,90 ± 1,26 (4,40 – 10,60)	6,57 ± 1,90 (1,70 – 11,40)	0,48
Monosit Sayısı (10 ³ /uL)	0,2 – 0,9	0,62 ± 0,27 (0,11 – 1,72)	0,61 ± 0,28 (0,30 – 1,72)	0,62 ± 0,26 (0,11 – 1,44)	0,63
Nötrofil (%)	37 – 73	64,70 ± 10,41 (40,40 – 85,50)	62,50 ± 9,70 (40,40 – 82,30)	66,58 ± 10,80 (44,90 – 85,50)	0,16
Nötrofil Sayısı (10 ³ /uL)	1,5 – 7,3	5,80 ± 2,33 (3,02 – 16,27)	5,13 ± 1,33 (3,02 – 7,94)	6,37 ± 2,83 (3,11 – 16,27)	0,11
Nötrofil/Lenfosit Oranı	1,84 – 2,96	3,22 ± 2,02 (0,85 – 8,68)	2,69 ± 1,56 (0,85 – 8,29)	3,68 ± 2,27 (1,06 – 8,68)	0,10
Eozinofil (%)	0,5 – 6	2,68 ± 2,71 (0,00 – 16,40)	2,27 ± 1,33 (0,20 – 4,90)	3,04 ± 3,47 (0,00 – 16,40)	0,93
Eozinofil Sayısı (10 ³ /uL)	0,2 – 0,6	0,25 ± 0,30 (0,00 – 1,69)	0,19 ± 0,13 (0,01 – 0,47)	0,30 ± 0,39 (0,00 – 1,69)	0,87
PLT (10 ³ /uL)	150 – 400	328,10 ± 109,70 (164 – 587)	314,38 ± 96,52 (164 – 505)	339,86 ± 120,35 (166 – 587)	0,56
CRP (mg/L)	0 – 5	28,11 ± 52,07 (0,62 – 324,80)	17,45 ± 32,08 (0,62 – 121,72)	36,49 ± 62,88 (1,06 – 324,80)	0,03
Albumin (g/L)	35 – 52	42,72 ± 3,85 (34,40 – 49,80)	43,70 ± 3,48 (34,80 – 49,80)	41,87 ± 4,02 (34,40 – 48,70)	0,09
Alkalen fosfataz (U/L)	40 – 129	111,40 ± 78,50 (42 – 472)	81,67 ± 19,06 (42 – 128)	136,89 ± 99,34 (56 – 472)	0,04
Albumin/AlkalenFosfataz		0,49 ± 0,20 (0,08 – 1,09)	0,57 ± 0,16 (0,33 – 1,09)	0,43 ± 0,22 (0,08 – 0,84)	0,02
ALT (U/L)	0 – 40	20,88 ± 20,33 (4,00 – 106,80)	21,27 ± 22,08 (4,00 – 106,80)	20,55 ± 19,11 (6,40 – 98,80)	0,94
AST (U/L)	0 – 41	22,82 ± 14,96 (6,90 – 103,60)	19,51 ± 10,28 (6,90 – 57,30)	25,66 ± 17,74 (7,70 – 103,60)	0,09
LDH (U/L)	135 – 225	329,33 ± 294,95 (145 – 1858)	211,04 ± 37,98 (145 – 306)	430,71 ± 374,16 (147 – 1858)	0,02
eGFR (MDRD) (mL/dk)	90-186	88,97 ± 24,52 (39,30 – 144,66)	86,29 ± 22,15 (39,30 – 136,05)	91,26 ± 26,56 (44,31 – 144,66)	0,47
Glukoz (mg/dL)	82 – 115	104,44 ± 22,26 (75,10 – 173,40)	100,43 ± 20,46 (75,30 – 173,40)	107,88 ± 23,51 (75,10 – 171,40)	0,31
Üre (mg/dL)	16,6 – 48,5	32,57 ± 11,06 (16,70 – 70,90)	31,12 ± 11,70 (16,70 – 70,90)	33,81 ± 10,54 (18,00 – 60,60)	0,22
Kreatinin (mg/dL)	0,70 – 1,2	0,88 ± 0,24 (0,47 – 1,65)	0,87 ± 0,21 (0,55 – 1,41)	0,89 ± 0,27 (0,47 – 1,65)	0,88
Total bilirubin (mg/dL)	0,2 – 1,2	1,90 ± 10,38 (0,15 – 75,30)	0,41 ± 0,21 (0,15 – 1,02)	3,18 ± 14,14 (0,18 – 75,30)	0,15
CEA(ng/mL)	0-5,2	384,47 ± 1078,41 (0,31 – 6538)	9,61 ± 26,68 (0,31 – 125,90)	703,81 ± 1400,33 (1,55 – 6538)	0,00
GIMA CA 19,9 (U/mL)	0-27	523,18 ± 1787,01 (0,60 – 9909)	13,12 ± 10,56 (0,60 – 41,76)	942,15 ± 2347,34 (0,87 – 9909)	0,00

3.2. T Hücre Alt Grupları

Th1 hücreleri kolon kanserli hastalarda kontrol grubuna göre yüksek, CD4⁺ Tfh'leri ise düşük saptandı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,003). İleri evre hastalarda Th1 hücreleri kontrole göre daha yüksek ve CD4⁺ Tfh'leri ise daha düşüktü (p = 0,01). CD8⁺ Tfh'lerinde ileri evre hastalarda erken evre hastalara göre artış saptandı (p = 0,02) (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Kolon kanserli hastaların T hücre alt gruplarının karşılaştırılması

Ortalama ± SS (min – maks)	Tüm Hastalar (N = 52)	Kontrol (N = 30)	p*	Erken Evre (n = 24)	İleri Evre (n = 28)	p**
CD3 ⁺ T Hücre	68,00 ± 8,90 (46,40 – 83,00)	68,41 ± 7,36 (51,10 – 80,80)	0,83	69,05 ± 7,84 (48,80 – 83,00)	67,09 ± 9,77 (46,40 – 80,90)	0,69
CD4 ⁺ Th	37,20 ± 8,78 (14,50 – 65,70)	41,25 ± 9,23 (23,20 – 59,60)	0,05	36,95 ± 8,01 (23,60 – 53,80)	37,40 ± 9,53 (14,50 – 65,70)	0,15
- Th1	13,26 ± 7,10 (4,50 – 51,40)	10,47 ± 3,82 (3,70 – 21,20)	0,04	11,64 ± 4,52 (4,50 – 20,50)	14,65 ± 8,57 (4,50 – 51,40)	0,045 ^a
- Th2	9,78 ± 3,76 (1,60 – 19,80)	9,75 ± 4,16 (2,20 – 20,10)	0,97	9,70 ± 3,84 (2,70 – 16,40)	9,85 ± 3,77 (1,60 – 19,80)	0,87
- Th9	16,01 ± 10,87 (4,10 – 56,20)	16,00 ± 12,40 (4,10 – 51,10)	0,83	17,69 ± 9,07 (7,10 – 43,80)	14,57 ± 12,17 (4,10 – 56,20)	0,08
- Th17	12,47 ± 3,95 (5,80 – 22,20)	13,19 ± 4,09 (5,40 – 21,10)	0,43	13,41 ± 4,22 (5,80 – 22,20)	11,65 ± 3,57 (5,90 – 21,80)	0,21
- Th1Th17	8,98 ± 6,38 (2,10 – 39,80)	7,82 ± 4,15 (1,70 – 18,90)	0,71	9,12 ± 4,04 (3,90 – 16,60)	8,87 ± 7,93 (2,10 – 39,80)	0,38
- CD4 ⁺ Tfh	9,46 ± 3,93 (3,10 – 25,00)	12,03 ± 4,34 (4,50 – 23,50)	0,003	9,67 ± 4,27 (4,90 – 25,00)	9,28 ± 3,69 (3,10 – 23,40)	0,01 ^b
- CD4 ⁺ Tph	1,16 ± 0,79 (0,30 – 4,20)	1,23 ± 0,96 (0,30 – 4,70)	0,99	1,31 ± 0,91 (0,40 – 4,20)	1,03 ± 0,67 (0,30 – 3,30)	0,49
CD8 ⁺ STL	26,05 ± 8,18 (7,90 – 38,60)	22,74 ± 8,87 (10,90 – 50,70)	0,09	27,38 ± 7,49 (11,90 – 38,60)	24,92 ± 8,70 (7,90 – 38,30)	0,14
- CD8 ⁺ Tfh	2,09 ± 1,56 (0,30 – 7,80)	2,53 ± 1,72 (0,70 – 7,50)	0,20	1,63 ± 1,37 (0,40 – 7,10)	2,48 ± 1,64 (0,30 – 7,80)	0,02 ^c
- CD8 ⁺ Tph	1,07 ± 0,72 (0,20 – 3,40)	1,27 ± 1,18 (0,10 – 5,40)	0,88	1,08 ± 0,56 (0,20 – 2,50)	1,07 ± 0,85 (0,30 – 3,40)	0,74

*: Hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada normal dağılıma uyan verilerde bağımsız iki örneklem T Testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise Mann-Whitney U Test kullanıldı.
***:Normal dağılıma uygun verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA), normal dağılım göstermeyen verilerde ise Kruskal-Wallis H testi kullanıldı.
^a Kontrol - Erken Evre: 0,34; Kontrol - Evre 4: 0,01; Erken evre - Evre 4: 0,16
^b Kontrol - Erken Evre: 0,02; Kontrol - Evre 4: 0,01; Erken evre - Evre 4: 0,84
^c Kontrol - Erken Evre: 0,02; Kontrol - Evre 4: 0,94; Erken evre - Evre 4: 0,02

3.3. T Hücrelerinde Kemokin Reseptör Ekspresyonları

Çalışma gruplarında T hücrelerinin kemokin yüzde oranları ve ortalama floresan yoğunlukları (MFI) Tablo 3.3'de özetlenmiştir.

Tablo 3.3. Kolon kanserli hastaların evrelerine göre T hücre alt gruplarındaki kemokin ekspresyonlarının karşılaştırılması

Ortalama ± SS (min – maks)	Tüm Hastalar (N = 52)	Kontrol (N = 30)	p*	Erken Evre (n = 24)	İleri Evre (n = 28)	p**
Lenfosit						
- CXCR3 (%)	26,41 ± 8,25 (10,90 – 54,00)	28,41 ± 7,45 (16,60 – 42,60)	0,28	26,12 ± 7,21 (13,30 – 38,80)	26,65 ± 9,18 (10,90 – 54,00)	0,54
- CXCR3 (MFI)	980,56 ± 190,36 (527 – 1582)	1046,34 ± 196,11 (763 – 1701)	0,09	986,21 ± 185,51 (527 – 1358)	975,71 ± 197,68 (746 – 1582)	0,17
- CCR4 (%)	19,48 ± 6,22 (10,40 – 36,40)	21,98 ± 6,25 (11,70 – 36,30)	0,08	20,41 ± 7,13 (11,10 – 36,40)	18,69 ± 5,31 (10,40 – 34,30)	0,14
- CCR4 (MFI)	6696,17 ± 1513,42 (2684 – 10224)	6897,60 ± 1647,78 (3187 – 11039)	0,58	6351,04 ± 1663,98 (2684 – 10224)	6992,00 ± 1330,84 (3738 – 9483)	0,29
- CCR6 (%)	22,59 ± 8,92 (5,30 – 50,90)	27,34 ± 9,85 (12,80 – 51,10)	0,03	22,88 ± 8,03 (8,30 – 43,10)	22,34 ± 9,75 (5,30 – 50,90)	0,09
- CCR6 (MFI)	7846,03 ± 2475,49 (1041 – 14801)	9747,30 ± 2543,62 (5554 – 17511)	0,001	7793,42 ± 2082,62 (2280 – 11480)	7891,14 ± 2806,40 (1041 – 14801)	0,004^a
- CXCR5 (%)	15,03 ± 4,85 (3,20 – 25,90)	19,43 ± 5,95 (10,10 – 36,90)	0,00	14,11 ± 3,82 (6,50 – 24,70)	15,82 ± 5,54 (3,20 – 25,90)	0,001^b
- CXCR5 (MFI)	8240,23 ± 1930,84 (3685 – 11748)	7821,53 ± 1829,25 (4825 – 12922)	0,34	8148,46 ± 1799,59 (3842 – 11748)	8318,89 ± 2066,25 (3685 – 11367)	0,60
CD3⁺ T Hücre						
- CXCR3 (%)	36,09 ± 10,34 (16,80 – 64,00)	38,10 ± 9,33 (21,10 – 59,80)	0,38	35,27 ± 9,88 (19,40 – 50,20)	36,80 ± 10,84 (16,80 – 64,00)	0,59
- CXCR3 (MFI)	986,79 ± 191,36 (526 – 1577)	1060,31 ± 210,60 (764 – 1807)	0,08	993,38 ± 188,94 (526 – 1380)	981,14 ± 196,69 (744 – 1577)	0,16
- CCR4 (%)	24,50 ± 7,72 (12,70 – 42,40)	27,92 ± 9,28 (14,40 – 50,60)	0,08	24,53 ± 8,71 (12,70 – 42,40)	24,48 ± 6,92 (13,90 – 42,30)	0,21
- CCR4 (MFI)	7068,35 ± 1676,10 (1886 – 10793)	7321,63 ± 1736,40 (3084 – 11224)	0,52	6748,96 ± 1869,14 (1886 – 10793)	7342,11 ± 1470,37 (3756 – 10014)	0,37
- CCR6 (%)	22,17 ± 12,08 (6,50 – 69,80)	25,61 ± 11,95 (9,20 – 57,40)	0,12	23,28 ± 9,89 (8,20 – 49,30)	21,22 ± 13,80 (6,50 – 69,80)	0,12
- CCR6 (MFI)	7484,12 ± 2327,41 (668 – 14085)	9381,93 ± 2609,44 (5337 – 17765)	0,001	7667,00 ± 1856,77 (3770 – 11573)	7327,36 ± 2690,67 (668 – 14085)	0,003^c
- CXCR5 (%)	10,62 ± 3,49 (3,20 – 19,50)	12,90 ± 3,34 (8,00 – 22,00)	0,01	10,51 ± 3,43 (5,70 – 19,40)	10,71 ± 3,61 (3,20 – 19,50)	0,02^d
- CXCR5 (MFI)	3726,58 ± 739,21 (1587 – 5447)	3470,07 ± 530,58 (2594 – 4531)	0,10	3788,25 ± 657,02 (2340 – 5105)	3673,71 ± 811,26 (1587 – 5447)	0,22
CD4⁺Th						
- CXCR3 (%)	35,70 ± 9,77 (15,40 – 62,90)	34,57 ± 8,98 (20,30 – 61,00)	0,44	34,64 ± 9,03 (15,40 – 51,70)	36,62 ± 10,44 (19,00 – 62,90)	0,66
- CXCR3 (MFI)	1058,58 ± 211,34 (516 – 1614)	1192,90 ± 309,75 (832 – 2534)	0,02	1048,63 ± 225,58 (516 – 1383)	1067,11 ± 202,12 (756 – 1614)	0,07
- CCR4 (%)	35,55 ± 9,39	38,50 ± 10,18	0,17	36,60 ± 10,25	34,65 ± 8,69	0,33

	(17,20 – 59,00)	(17,60 – 65,40)		(17,20 – 59,00)	(17,90 – 50,70)	
- CCR4 (MFI)	7462,35 ± 1837,52 (1975 – 11270)	7678,97 ± 1745,02 (3263 – 11377)	0,60	7019,33 ± 1930,87 (1975 – 11072)	7842,07 ± 1696,43 (3803 – 11270)	0,23
- CCR6 (%)	34,30 ± 13,47 (14,50 – 74,00)	36,73 ± 16,76 (15,40 – 81,60)	0,66	36,99 ± 12,73 (14,50 – 67,30)	32,00 ± 13,89 (16,60 – 74,00)	0,20
- CCR6 (MFI)	7651,56 ± 2392,30 (673 – 14448)	9477,60 ± 2661,47 (5357 – 17684)	0,002	7886,13 ± 1923,09 (3818 – 11775)	7450,50 ± 2751,20 (673 – 14448)	0,01^e
- CXCR5 (%)	16,99 ± 4,90 (8,80 – 29,20)	19,08 ± 4,70 (10,80 – 30,10)	0,06	17,74 ± 5,79 (8,80 – 29,20)	16,34 ± 3,99 (9,30 – 24,40)	0,11
- CXCR5 (MFI)	3861,40 ± 766,31 (1649 – 5676)	3562,80 ± 520,82 (2750 – 4596)	0,06	3917,46 ± 659,01 (2415 – 5210)	3813,36 ± 856,77 (1649 – 5676)	0,15
CD8⁺ STL						
- CXCR3 (%)	37,57 ± 13,99 (8,20 – 68,40)	44,38 ± 12,45 (18,90 – 63,80)	0,03	35,84 ± 13,35 (14,00 – 62,30)	39,05 ± 14,60 (8,20 – 68,40)	0,7
- CXCR3 (MFI)	892,48 ± 173,68 (536 – 1454)	922,97 ± 140,01 (689 – 1255)	0,42	892,13 ± 151,05 (536 – 1138)	892,79 ± 193,76 (639 – 1454)	0,39
- CCR4 (%)	11,91 ± 7,09 (2,60 – 32,70)	12,49 ± 6,09 (3,80 – 26,70)	0,39	10,51 ± 6,95 (3,40 – 32,70)	13,11 ± 7,11 (2,60 – 32,50)	0,16
- CCR4 (MFI)	5390,02 ± 1644,63 (1293 – 9343)	5503,87 ± 1733,89 (2367 – 10286)	0,77	5349,75 ± 1740,80 (1293 – 8859)	5424,54 ± 1589,01 (3093 – 9343)	0,95
- CCR6 (%)	7,46 ± 8,63 (0,90 – 53,10)	9,60 ± 7,79 (1,00 – 26,50)	0,15	6,88 ± 5,47 (1,10 – 22,40)	7,96 ± 10,71 (0,90 – 53,10)	0,28
- CCR6 (MFI)	6541,75 ± 2179,00 (589 – 13302)	8492,73 ± 2611,62 (5161 – 17344)	0,001	6424,79 ± 1427,26 (3394 – 9169)	6642,00 ± 2685,26 (589 – 13302)	0,002^f
- CXCR5 (%)	2,84 ± 1,85 (0,40 – 9,40)	3,24 ± 1,86 (1,00 – 7,90)	0,28	2,38 ± 1,68 (0,70 – 8,30)	3,24 ± 1,93 (0,40 – 9,40)	0,05
- CXCR5 (MFI)	2641,38 ± 635,71 (1157 – 3859)	2705,13 ± 597,68 (1864 – 4229)	0,66	2646,21 ± 664,54 (1200 – 3859)	2637,25 ± 622,20 (1157 – 3814)	0,91
* : Hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada normal dağılıma uyan verilerde bağımsız iki örneklem T Testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise Mann-Whitney U Test kullanıldı.						
** : Normal dağılıma uygun verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA), normal dağılım göstermeyen verilerde ise Kruskal-Wallis H testi kullanıldı.						
^a Kontrol - Erken Evre: 0,01; Kontrol – İleri Evre: 0,01; Erken evre – İleri Evre: 0,91						
^b Kontrol - Erken Evre: 0,001; Kontrol – İleri Evre: 0,03; Erken evre – İleri Evre: 0,74						
^c Kontrol - Erken Evre: 0,01; Kontrol – İleri Evre: 0,001; Erken evre – İleri Evre: 0,64						
^d Kontrol - Erken Evre: 0,04; Kontrol – İleri Evre: 0,06; Erken evre – İleri Evre: 1,00						
^e Kontrol - Erken Evre: 0,02; Kontrol – İleri Evre: 0,002; Erken evre – İleri Evre: 0,52						
^f Kontrol - Erken Evre: 0,002; Kontrol – İleri Evre: 0,003; Erken evre – İleri Evre: 0,76						
MFI: Ortalama floresan yoğunluğu						

Kolon kanserli hastaların lenfositlerinde CCR6 yüzde oranı ile lenfositler, CD3⁺ T hücreler, CD4⁺ Th ve CD8⁺ STL'lerin CCR6 ekspresyonu (MFI) kontrol grubuna göre düşük saptandı (sırasıyla, p = 0,03, p = 0,001, p = 0,001, p = 0,002, p = 0,001). Lenfositlerin ve CD3⁺ T hücrelerinin CXCR5 yüzde oranı kolon kanserli hastalarda kontrole göre düşüktü (sırasıyla, p = 0,00, p = 0,01). CCR6 yüzde oranı tüm hastalarda ve erken evredeki hastalarda kontrole göre düşük izlendi. CD4⁺ Th'in

CXCR3 ekspresyonu ve CD8⁺ STL'in CXCR3 yüzde oranı kolon kanserli hastalarda kontrole göre düşüktü (sırasıyla, p = 0,02, p = 0,03). İleri evre hastaların lenfosit, CD3⁺ T hücre, CD4⁺ Th ile CD8⁺ STL'lerinde CCR6 ekspresyonu (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,003, p = 0,01, p = 0,002) ve lenfositlerin CXCR5 yüzde oranı kontrol grubuna göre düşük saptandı (p = 0,001). CD3⁺ T hücrelerinin CXCR5 yüzde oranı erken evre hastalarda kontrole göre düşüktü (p = 0,04) (Tablo 3.3).

3.4. T Hücre Alt Gruplarında PD-1 Ekspresyonlarının Karşılaştırılması

Kolon kanserli hastaların lenfosit alt gruplarında PD-1 ekspresyonları açısından anlamlı fark izlenmedi (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Evrelerine göre kolon kanserli hastalarda T hücre alt gruplarının PD-1 ekspresyonları açısından karşılaştırılması

Ortal ama ± SS (min – maks)	Tüm Hastalar (N = 52)	Kontrol (N = 30)	P*	Erken Evre (n = 24)	İleri Evre (n = 28)	P**
Lenfosit						
- PD-1 (%)	27,68 ± 10,80 (10,90 – 55,40)	28,78 ± 9,67 (12,20 – 48,30)	0,4 8	27,29 ± 11,07 (11,00 – 50,00)	28,02 ± 10,75 (10,90 – 55,40)	0,81
- PD-1 (MFI)	2338,62 ± 1277,55 (1282 – 9878)	2650,80 ± 1707,54 (1391 – 8839)	0,5 7	2276 ± 777 (1282 – 5153)	2392 ± 1600 (1334 – 9878)	0,67
CD3⁺ T Hücre						
- PD-1 (%)	38,64 ± 14,61 (13,50 – 88,90)	41,33 ± 15,46 (14,60 – 80,00)	0,46	38,05 ± 15,04 (13,50 – 70,10)	39,14 ± 14,50 (18,60 – 88,90)	0,72
- PD-1 (MFI)	2334 – 1302 (1263 – 10177)	2617 ± 1710 (1489 – 9048)	0,71	2235 ± 733 (1263 – 4875)	2419 ± 1651 (1332 – 10177)	0,85
CD4⁺Th						
- PD-1 (%)	43,88 – 18,01 (18,20 – 94,30)	47,17 ± 19,99 (14,30 – 91,50)	0,42	44,11 ± 19,88 (22,40 – 94,30)	43,68 ± 16,60 (18,20 – 88,40)	0,68
- PD-1 (MFI)	2334,77 ± 1274,75 (1210 – 9951)	2622,10 ± 1755,58 (1539 – 9269)	0,91	2226,29 ± 736,96 (1210 – 5113)	2427,75 ± 1608,52 (1334 – 9951)	0,87
CD8⁺ STL						
- PD-1 (%)	34,80 ± 17,73 (6,10 – 93,20)	34,56 ± 16,16 (9,40 – 85,20)	0,98	31,61 ± 14,86 (6,80 – 68,70)	37,54 ± 19,72 (6,10 – 93,20)	0,80
- PD-1 (MFI)	2330,62 ± 1425,68 (1294 – 11118)	2499 ± 1395,30 (1421 – 9094)	0,23	2227,50 ± 739,63 (1294 – 4768)	2419,00 ± 1831,86 (1305 – 11118)	0,45

*: Hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada normal dağılıma uyan verilerde bağımsız iki örneklem T Testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise Mann-Whitney U Test kullanıldı.

** : Normal dağılıma uygun verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA), normal dağılım göstermeyen verilerde ise Kruskal-Wallis H testi kullanıldı.

MFI: Ortalama floresan yoğunluğu

3.5. T Hücre Alt Gruplarında EGFR Ekspresyonlarının Karşılaştırılması

T hücre alt gruplarının EGFR yüzdesi ve ekspresyonları (ortanca floresan yoğunlukları-MFI) Tablo 3.5’de verilmiştir.

Tablo 3.5. Evrelerine göre kolon kanserli hastalarda T hücre alt gruplarının EGFR ekspresyonları açısından karşılaştırılması

Ortalama ± SS (min – maks)	Tüm Hastalar (N = 52)	Kontrol (N = 30)	P*	Erken Evre (n = 24)	İleri Evre (n = 28)	P**
Lenfosit						
- EGFR (%)	0,81 ± 0,59 (0,10 – 3,40)	0,80 ± 0,24 (0,20 – 1,20)	0,11	0,66 ± 0,27 (0,30 – 1,30)	0,94 ± 0,74 (0,10 – 3,40)	0,13
- EGFR (MFI)	348,67 ± 109,02 (145 – 775)	309,67 ± 70,02 (238 – 572)	0,03	351,46 ± 86,38 (262 – 672)	346,29 ± 126,80 (145 – 775)	0,06
CD3⁺ T Hücre						
- EGFR (%)	0,88 ± 0,46 (0,20 – 3,00)	1,07 ± 0,35 (0,40 – 1,80)	0,01	0,86 ± 0,36 (0,30 – 1,60)	0,89 ± 0,54 (0,20 – 3,00)	0,03^a
- EGFR (MFI)	348,67 ± 109,02 (145 – 775)	309,67 ± 70,02 (238 – 572)	0,03	351,46 ± 86,38 (262 – 672)	346,29 ± 126,80 (145 – 775)	0,06
CD4⁺Th						
- EGFR (%)	1,27 ± 0,65 (0,30 – 3,60)	1,51 ± 0,61 (0,60 – 3,90)	0,03	1,25 ± 0,44 (0,70 – 2,20)	1,28 ± 0,79 (0,30 – 3,60)	0,08
- EGFR (MFI)	349,08 ± 112,84 (145 – 765)	306,93 ± 69,16 (237 – 571)	0,02	352,25 ± 95,95 (253 – 727)	346,36 ± 127,25 (145 – 765)	0,04^b
Th1						
- EGFR (%)	1,34 ± 0,88 (0,30 – 3,90)	1,43 ± 0,86 (0,30 – 4,00)	0,50	1,48 ± 0,96 (0,40 – 3,90)	1,23 ± 0,82 (0,30 – 3,70)	0,47
- EGFR (MFI)	366,27 ± 186,50 (141 – 1324)	297,77 ± 71,99 (227 – 607)	0,03	390,38 ± 221,51 (247 – 1324)	345,61 ± 151,47 (141 – 820)	0,03^c
Th2						
- EGFR (%)	1,66 ± 1,02 (0,20 – 5,00)	1,92 ± 0,89 (0,80 – 4,10)	0,25	1,56 ± 0,97 (0,20 – 3,40)	1,74 ± 1,08 (0,50 – 5,00)	0,25
- EGFR (MFI)	348,98 ± 122,50 (141 – 755)	301,63 ± 67,86 (230 – 571)	0,03	351,00 ± 99,76 (246 – 755)	347,25 ± 140,92 (141 – 722)	0,03^d
Th9						
- EGFR (%)	1,96 ± 0,94 (0,70 – 4,90)	2,14 ± 1,02 (0,50 – 6,10)	0,17	1,86 ± 0,67 (0,80 – 3,40)	2,05 ± 1,13 (0,70 – 4,90)	0,39
- EGFR (MFI)	353,37 ± 137,58 (134 – 798)	304,20 ± 66,48 (223 – 530)	0,08	341,17 ± 87,83 (247 – 662)	364,22 ± 171,22 (134 – 798)	0,14
Th17						
- EGFR (%)	2,11 ± 1,04 (0,40 – 5,20)	2,26 ± 1,01 (0,90 – 4,50)	0,52	2,18 ± 0,93 (0,90 – 4,80)	2,05 ± 1,14 (0,40 – 5,20)	0,56
- EGFR (MFI)	346,17 ± 102,96 (151 – 755)	306,27 ± 60,04 (242 – 547)	0,03	350,08 ± 81,83 (257 – 617)	342,82 ± 119,56 (151 – 755)	0,048^e
Th1Th17						
- EGFR (%)	2,06 ± 1,24 (0,60 – 7,70)	2,03 ± 0,88 (0,60 – 3,90)	0,61	1,85 ± 1,00 (0,60 – 4,50)	2,23 ± 1,40 (0,80 – 7,70)	0,54
- EGFR (MFI)	334,82 ± 107,20	304,17 ±	0,14	343,92 ±	326,42 ± 125,48	0,13

	(142 – 768)	64,07 (222 -522)		84,87 (248 – 582)	(142 – 768)	
CD4⁺Tfh						
- EGFR (%)	1,53 ± 1,08 (0,20 – 4,70)	1,59 ± 1,59 (0,20 – 8,60)	0,83	1,12 ± 0,68 (0,20 – 2,50)	1,89 ± 1,24 (0,20 – 4,70)	0,07
- EGFR (MFI)	398,85 ± 176,66 (192 – 1254)	335,17 ± 94,33 (239 – 687)	0,02	388,83 ± 194,98 (268 – 1254)	407,43 ± 162,48 (192 – 951)	0,046^f
CD4⁺Tph						
- EGFR (%)	3,89 ± 2,62 (0,40 – 11,30)	3,26 ± 2,05 (0,40 – 8,80)	0,34	2,98 ± 1,72 (0,40 – 5,50)	4,66 ± 3,02 (0,60 – 11,30)	0,12
- EGFR (MFI)	359,42 ± 153,32 (175 – 1040)	315,50 ± 97,58 (184 – 658)	0,15	367,75 ±166,61 (242 – 1040)	352,29 ± 143,67 (175 – 759)	0,29
CD8⁺ STL						
- EGFR (%)	0,17 ± 0,33 (0,00 – 1,70)	0,28 ± 0,80 (0,01 – 4,30)	0,43	0,08 ± 0,14 (0,00 – 0,60)	0,24 ± 0,42 (0,00 – 1,70)	0,22
- EGFR (MFI)	390,36 ± 323,08 (0 – 1757)	456,00 ± 254,95 (237 – 1212)	0,66	413,42 ± 368,54 (0 – 1757)	369,08 ± 280,45 (0 – 1044)	0,74
CD8⁺ Tph						
- EGFR (%)	4,62 ± 5,64 (0 – 40)	-	-	3,24 ± 2,55 (0 – 11,10)	5,81 ± 7,17 (1,10 – 40)	0,02
- EGFR (MFI)	237,49 ± 308,92 (59 – 1821)	-	-	205,09 ± 153,98 (78 – 755)	264,11 ± 394,69 (59 – 1821)	0,39
* : Hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada normal dağılıma uyan verilerde bağımsız iki örneklem T Testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise Mann-Whitney U Testi kullanıldı.						
** : Normal dağılıma uygun verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA), normal dağılım göstermeyen verilerde ise Kruskal-Wallis H testi kullanıldı.						
^a Kontrol – Erken Evre: 0,12; Kontrol – İleri Evre: 0,04; Erken evre – İleri Evre: 1,00						
^b Kontrol – Erken Evre: 0,04; Kontrol – İleri Evre: 0,42; Erken evre – İleri Evre: 0,89						
^c Kontrol – Erken Evre: 0,02; Kontrol – İleri Evre: 0,87; Erken evre – İleri Evre: 0,31						
^d Kontrol – Erken Evre: 0,02; Kontrol – İleri Evre: 0,63; Erken evre – İleri Evre: 0,45						
^e Kontrol – Erken Evre: 0,04; Kontrol – İleri Evre: 0,43; Erken evre – İleri Evre: 0,93						
^f Kontrol – Erken Evre: 0,08; Kontrol – İleri Evre: 0,02; Erken evre – İleri Evre: 0,59						
MFI: Ortanca floresan yoğunluğu						

Kolon kanserli hastaların CD3⁺ T hücre ve CD4⁺ Th hücrelerinde EGFR yüzde oranı kontrole göre düşüktü (sırasıyla, p = 0,001, p = 0,03). Lenfosit, CD3⁺ T hücre, CD4⁺ Th, Th1, Th2, Th17 ve CD4⁺ Tfh hücrelerinin EGFR yüzey ekspresyonunda ise artış saptandı (sırasıyla, p = 0,03, p = 0,03, p = 0,02, p = 0,03, p = 0,03, p = 0,03, p = 0,02) (Tablo 3.5). Kontrol grubunda CD8⁺ Tph'lerde EGFR ekspresyonu saptanmadı.

İleri evre kolon kanserli hastalarda CD3⁺ T hücrelerinin EGFR yüzde oranı kontrol grubuna göre düşüktü ve CD4⁺ Tfh'lerin EGFR ekspresyonlarında ise artış saptandı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,02). Erken evre hastaların CD4⁺ Th, Th1, Th2 ve Th17 hücrelerinin EGFR ekspresyonları kontrol grubuna göre artmıştı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,02, p = 0,02, p = 0,04). İleri evre kolon kanserli hastalarda CD8⁺ Tph

hücrelerinin EGFR yüzde oranında kontrole göre artış saptandı (p = 0,02) (Tablo 3.5).

3.6. T Hücre Alt Gruplarında VEGFR Ekspresyonlarının Karşılaştırılması

T hücre alt gruplarının VEGFR yüzdesi ve ekspresyonları (ortanca floresan yoğunlukları-MFI) Tablo 3.6'da verilmiştir.

Tablo 3.6. Evrelerine göre kolon kanserli hastalarda T hücre alt gruplarının VEGFR ekspresyonları açısından karşılaştırılması

Ortalama ± SS (min – maks)	Tüm Hastalar (N = 52)	Kontrol (N = 30)	P*	Erken Evre (n = 24)	İleri Evre (n = 28)	P**
Lenfosit						
- VEGFR (%)	1,77 ± 0,58 (1,00 – 4,90)	1,80 ± 0,42 (0,90 – 2,70)	0,30	1,70 ± 0,37 (1,30 – 2,70)	1,82 ± 0,72 (1,00 – 4,90)	0,56
- VEGFR (MFI)	231,60 ± 42,83 (121 – 344)	224,13 ± 32,99 (146 – 303)	0,41	240,71 ± 28,91 (200 – 299)	223,80 ± 51,14 (121 – 344)	0,17
CD3⁺ T Hücre						
- VEGFR (%)	2,13 ± 0,53 (1,40 – 4,40)	2,37 ± 0,55 (1,30 – 3,60)	0,047	2,07 ± 0,43 (1,50 – 3,00)	2,17 ± 0,61 (1,40 – 4,40)	0,046^a
- VEGFR (MFI)	231,15 ± 43,04 (121 – 343)	222,83 ± 32,53 (146 – 302)	0,36	241,21 ± 29,79 (198 – 298)	222,54 ± 50,76 (121 – 343)	0,14
CD4⁺Th						
- VEGFR (%)	2,88 ± 0,61 (1,50 – 4,00)	3,01 ± 0,61 (0,90 – 4,00)	0,23	2,90 ± 0,44 (2,00 – 3,50)	2,85 ± 0,73 (1,50 – 4,00)	0,49
- VEGFR (MFI)	233,69 ± 43,39 (120 – 337)	224,33 ± 33,55 (147 – 302)	0,15	244,25 ± 30,10 (204 – 318)	224,64 ± 50,99 (120 – 337)	0,09
Th1						
- VEGFR (%)	1,30 ± 0,89 (0,20 – 4,40)	1,19 ± 0,78 (0,30 – 3,80)	0,68	1,28 ± 0,96 (0,20 – 4,40)	1,32 ± 0,83 (0,20 – 3,70)	0,81
- VEGFR (MFI)	222,94 ± 44,28 (115 – 317)	206,83 ± 26,79 (142 – 269)	0,04	239,25 ± 34,38 (194 – 304)	208,96 ± 47,51 (115 – 317)	0,01^b
Th2						
- VEGFR (%)	5,30 ± 1,84 (0,50 – 9,60)	5,90 ± 1,32 (3,00 – 8,90)	0,08	5,36 ± 1,43 (2,60 – 8,70)	5,26 ± 2,16 (0,50 – 9,60)	0,30
- VEGFR (MFI)	238,08 ± 39,85 (121 – 332)	227,07 ± 30,09 (159 – 302)	0,03	247,08 ± 30,64 (197 – 308)	230,36 ± 45,45 (121 – 332)	0,11
Th9						
- VEGFR (%)	2,24 ± 1,20 (0,30 – 7,10)	2,20 ± 1,11 (0,70 – 5,40)	0,83	2,08 ± 0,96 (0,30 – 4,40)	2,38 ± 1,38 (0,40 – 7,10)	0,80

- VEGFR (MFI)	225,27 ± 45,23 (121 -356)	225,20 ± 61,31 (134 - 496)	0,39	223,75 ± 35,40 (190 - 356)	218,00 ± 51,75 (121 - 349)	0,43
Th17						
- VEGFR (%)	7,12 ± 2,22 (0,60 - 10,90)	7,46 ± 2,06 (4,10 - 13,10)	0,50	7,28 ± 1,57 (4,40 - 10,00)	6,98 ± 2,68 (0,60 - 10,90)	0,96
- VEGFR (MFI)	243,58 ± 47,54 (61,00 - 349)	237,73 ± 27,51 (181 - 290)	0,18	258,38 ± 30,01 (206 - 313)	230,89 ± 56,04 (61 - 349)	0,04^c
Th1Th17						
- VEGFR (%)	2,34 ± 1,36 (0,50 - 6,50)	2,17 ± 1,31 (0,70 - 6,40)	0,57	2,22 ± 1,20 (0,50 - 4,70)	2,45 ± 1,49 (0,60 - 6,50)	0,81
- VEGFR (MFI)	231,65 ± 52,02 (118 - 349)	243,43 ± 100,68 (134 - 635)	0,34	236,54 ± 33,32 (194 - 330)	227,46 ± 64,23 (118 - 349)	0,56
CD4⁺Tfh						
- VEGFR (%)	2,04 ± 0,90 (0,20 - 4,90)	2,63 ± 1,16 (1,10 - 4,90)	0,04	1,86 ± 0,61 (0,20 - 2,90)	2,20 ± 1,07 (0,30 - 4,90)	0,06
- VEGFR (MFI)	254,23 ± 58,84 (101 - 441)	229,33 ± 41,58 (155 - 403)	0,00 2	274,04 ± 52,63 (212 - 441)	237,25 ± 59,44 (101 - 387)	0,00^d
CD4⁺Tph						
- VEGFR (%)	3,46 ± 2,93 (0 - 16,70)	2,33 ± 1,49 (0,50 - 6,70)	0,06	3,54 ± 3,37 (0,50 - 16,70)	3,39 ± 2,55 (0,00 - 10,80)	0,18
- VEGFR (MFI)	169,92 ± 42,34 (91 - 284)	197,07 ± 72,88 (117 - 527)	0,04 9	181,35 ± 35,57 (117 - 255)	160,19 ± 45,76 (91 - 284)	0,02^e
CD8⁺ STL						
- VEGFR (%)	3,17 ± 1,55 (0,40 - 6,80)	3,22 ± 2,13 (0,02 - 8,20)	0,57	3,09 ± 1,72 (0,40 - 6,80)	3,25 ± 1,41 (0,70 - 6,00)	0,77
- VEGFR (MFI)	259,21 ± 51,84 (181 - 446)	238,77 ± 88,70 (179 - 696)	0,00	271,92 ± 54,71 (224 - 446)	248,32 ± 47,53 (181 - 383)	0,00^f
CD8⁺ Tfh						
- VEGFR (%)	5,93 ± 4,42 (0,00 - 21,10)	6,62 ± 4,36 (1,10 - 18,90)	0,52	5,58 ± 3,23 (0,00 - 11,40)	6,22 ± 5,27 (0,00 - 21,10)	0,81
- VEGFR (MFI)	239,67 ± 102,17 (0,00 - 567)	232,77 ± 52,30 (160 - 456)	0,04	258,67 ± 68,86 (0,00 - 389)	222,78 ± 123,49 (0 - 567)	0,01^g
CD8⁺ Tph						
- VEGFR (%)	6,52 ± 5,76 (0,80 - 40,00)	8,08 ± 9,09 (0 - 50)	0,63	5,03 ± 2,85 (0,80 - 11,10)	7,79 ± 7,22 (2,30 - 40,00)	0,23
- VEGFR (MFI)	236,14 ± 60,00 (93 - 393)	211,96 ± 46,29 (117 - 319)	0,07	245,00 ± 65,96 (93 - 393)	228,86 ± 54,77 (96 - 320)	0,11
* : Hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada normal dağılıma uyan verilerde bağımsız iki örneklem T Testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise Mann-Whitney U Test kullanıldı.						
** : Normal dağılıma uygun verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA), normal dağılım göstermeyen verilerde ise Kruskal-Wallis H testi kullanıldı.						
^a Kontrol – Erken Evre: 0,03; Kontrol – İleri Evre: 0,047; Erken evre – İleri Evre: 0,75						
^b Kontrol – Erken Evre: 0,003; Kontrol – İleri Evre: 0,67; Erken evre – İleri Evre: 0,01						
^c Kontrol – Erken Evre: 0,02; Kontrol – İleri Evre: 0,90; Erken evre – İleri Evre: 0,03						
^d Kontrol – Erken Evre: 0,00; Kontrol – İleri Evre: 0,20; Erken evre – İleri Evre: 0,01						

^e Kontrol – Erken Evre: 0,62; Kontrol – İleri Evre: 0,01; Erken evre – İleri Evre: 0,04
^f Kontrol – Erken Evre: 0,00; Kontrol – İleri Evre: 0,04; Erken evre – İleri Evre: 0,04
^g Kontrol – Erken Evre: 0,002; Kontrol – İleri Evre: 0,58; Erken evre – İleri Evre: 0,01
MFI: Ortanca floresan yoğunluğu

Kolon kanserli hastalarda CD3⁺ T hücre ve CD4⁺ Tfh'lerin VEGFR yüzde oranı ile CD4⁺ Tph'lerin VEGFR ekspresyonu kontrol grubuna göre düşüktü (sırasıyla, p = 0,047, p = 0,04, p = 0,049). Th1, Th2, CD4⁺ Tfh, CD8⁺ STL ve CD8⁺ Tfh'lerinin VEGFR ekspresyonları kontrole göre artmıştı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,03, p = 0,002, p = 0,00, p = 0,04).

Erken ve ileri kolon kanserli hastalarda CD3⁺ T hücrelerinin VEGFR yüzde oranı kontrole göre düşüktü (sırasıyla, p = 0,03, p = 0,047). Erken evre hastaların Th1, Th17, CD4⁺ Tfh ve CD8⁺ Tfh hücrelerinin VEGFR ekspresyonları ileri evre hastalar ve kontrol grubuna göre artmıştı (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,04, p = 0,00, p = 0,01). CD4⁺ Tph ve CD8⁺ STL'lerin VEGFR ekspresyonları erken evre kolon kanserli hastalarda ileri evre hastalara göre azalmıştı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,04). İleri evre hastalarda CD4⁺ Tph VEGFR ekspresyonu kontrole göre azalmışken; CD8⁺ STL'lerin VEGFR ekspresyonunda artış saptandı (sırayla, p = 0,01, p = 0,04).

3.7. Hemogram, Biyokimyasal Testler ve T hücre Alt Grupları Korelasyonları

Korelasyon testlerine göre lenfosit sayısı Th17 ve CD4⁺ Tfh ile negatif koreleydi (sırasıyla p = 0,01, p = 0,02). Nötrofil sayısı, CD3⁺ T hücreleri, Th1Th17 hücreleri ve CD8⁺ STL'ler ile negatif korele iken (sırasıyla, p = 0,03, p = 0,03, p = 0,03); CD8⁺ Tfh ve Tph'ler ile pozitif korele olarak saptandı (sırasıyla, p = 0,02, p = 0,01). Nötrofil/lenfosit oranı, CD3⁺ T hücreler ile negatif korele (p = 0,01); Th17 ve CD4⁺ Tfh'ler ile pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,004, p = 0,01). CRP seviyesi ile Th9 ve Th1Th17 hücreleri arasında negatif korelasyon izlendi (sırasıyla, p = 0,02, p = 0,03). LDH ile CD8⁺ Tfh arasında ve albumin ile Th1Th17 hücreleri arasında pozitif korelasyon saptandı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,03). Alkalen fosfataz, CD8⁺ STL'ler ile negatif korele ve CD8⁺ Tfh'ler ile pozitif korele iken (p = 0,002); albumin/alkalen fosfataz oranı CD8⁺ STL'ler ile pozitif korele ve CD8⁺ Tfh'ler ile negatif koreleydi (sırasıyla, p = 0,02, p = 0,01). CEA seviyesi ve Th9 hücreler arasında negatif korelasyon saptandı (p = 0,04) (Tablo 3.7).

Tablo 3.7. T hücre alt grupları ve biyokimyasal test korelasyonları

KK	Ln Sayısı	Nt Sayısı	N/L Oranı	CRP	LDH	Alb.	Alkal en Fosfat	Alb./Alk. Fosf.	CEA	CA 19,9
CD3	0,17	-0,30	-0,34	-0,02	-0,26	0,01	-0,26	0,23	-0,12	-0,19
	0,22	0,03	0,01	0,91	0,07	0,93	0,07	0,11	0,40	0,18
CD4	0,09	0,04	-0,11	-0,23	-0,02	0,06	0,14	-0,06	0,04	-0,07
	0,54	0,79	0,45	0,11	0,90	0,67	0,34	0,66	0,78	0,62
Th1	0,14	-0,07	-0,13	0,23	-0,03	-0,20	-0,10	0,06	-0,09	0,15
	0,32	0,61	0,34	0,11	0,82	0,16	0,49	0,69	0,53	0,28
Th2	0,02	0,13	0,04	-0,01	-0,17	0,04	0,10	-0,12	0,06	0,06
	0,91	0,35	0,76	0,92	0,22	0,78	0,48	0,42	0,68	0,66
Th9	-0,05	-0,17	-0,03	-0,33	-0,09	0,27	-0,18	0,22	-0,30	-0,26
	0,70	0,23	0,84	0,02	0,52	0,06	0,20	0,12	0,04	0,06
Th17	-0,36	0,21	0,39	-0,15	0,08	0,11	0,23	-0,19	-0,02	-0,07
	0,01	0,13	0,004	0,29	0,56	0,46	0,11	0,19	0,91	0,64
Th1Th17	0,03	-0,30	-0,17	-0,30	-0,05	0,30	-0,19	0,24	-0,27	-0,21
	0,83	0,03	0,23	0,03	0,73	0,03	0,18	0,09	0,06	0,13
CD4 ⁺ Tfh	-0,34	0,06	0,36	-0,04	-0,06	0,15	0,12	-0,07	-0,06	-0,19
	0,02	0,66	0,01	0,77	0,67	0,29	0,38	0,60	0,66	0,19
CD4 ⁺ Tph	-0,18	0,11	0,23	0,08	-0,11	0,01	-0,16	0,15	-0,05	-0,02
	0,20	0,44	0,10	0,59	0,44	0,96	0,27	0,28	0,75	0,92
CD8	0,13	-0,31	-0,25	0,16	-0,27	-0,08	-0,43	0,32	-0,09	-0,09
	0,36	0,03	0,07	0,27	0,06	0,59	0,002	0,02	0,55	0,54
CD8 ⁺ Tfh	-0,02	0,33	0,18	-0,11	0,29	-0,02	0,41	-0,36	0,22	0,19
	0,90	0,02	0,19	0,45	0,04	0,86	0,002	0,01	0,13	0,17
CD8 ⁺ Tph	-0,05	0,37	0,26	0,08	0,19	-0,18	0,17	-0,18	0,12	-0,01
	0,73	0,01	0,06	0,56	0,18	0,21	0,23	0,19	0,41	0,93

Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre PD-1 ekspresyonlarının korelasyon analizlerinde STL'lerin PD-1 oranı, lenfosit sayısı ve CEA seviyesiyle pozitif koreleydi (sırasıyla, $p = 0,01$, $p = 0,03$). Albumin ile CD3⁺ T hücre, CD4⁺ Th ve CD8⁺ STL'lerin PD-1 ekspresyonları (MFI) arasında negatif korelasyon saptandı (sırasıyla, $p = 0,02$, $p = 0,04$, $p = 0,04$) (Tablo 3.8).

Tablo 3.8. Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre yüzey PD-1 ekspresyonları arasındaki korelasyonlar

K.K.	Ln Sayısı	Nt Sayısı	N/L Oranı	CRP	LDH	Alb.	Alkalen Fosfataz	Alb./Alk. Fosfataz	CEA	CA 19,9
p										
Lenfosit										
PD-1 (%)	0,08	0,01	0,08	0,05	-0,02	0,09	0,03	0,04	0,18	-0,06
	0,56	0,95	0,57	0,74	0,90	0,53	0,82	0,79	0,21	0,67
PD-1 (MFI)	0,10	-0,03	0,05	0,16	0,03	-0,26	-0,00	-0,06	-0,11	-0,04
	0,50	0,86	0,75	0,28	0,82	0,06	0,99	0,65	0,44	0,80
CD3⁺ T hücre										
PD-1 (%)	0,14	-0,06	0,18	0,19	0,05	0,13	0,07	-0,05	0,18	-0,04
	0,34	0,70	0,21	0,18	0,73	0,35	0,61	0,74	0,21	0,81
PD-1 (MFI)	0,09	0,09	0,03	0,11	0,01	-0,31	-0,00	-0,07	-0,10	-0,02
	0,53	0,53	0,85	0,43	0,92	0,02	0,98	0,61	0,50	0,89
CD4⁺ Th										
PD-1 (%)	-0,09	-0,07	0,11	0,11	-0,06	0,14	-0,08	0,13	0,08	-0,15
	0,55	0,65	0,45	0,43	0,67	0,33	0,60	0,36	0,60	0,29
PD-1 (MFI)	-0,06	0,12	0,09	0,22	-0,01	-0,28	-0,03	-0,03	-0,09	-0,04
	0,69	0,39	0,53	0,13	0,93	0,04	0,82	0,83	0,53	0,80
CD8⁺ STL										
PD-1 (%)	0,35	0,09	0,14	0,03	0,12	0,00	0,26	-0,23	0,30	0,15
	0,01	0,55	0,33	0,86	0,39	0,98	0,07	0,10	0,03	0,29
PD-1 (MFI)	0,16	0,02	0,04	0,16	0,15	-0,29	0,09	-0,16	-0,00	0,01
	0,27	0,90	0,76	0,28	0,28	0,04	0,52	0,25	0,99	0,93

Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre yüzey EGFR ekspresyonları arasındaki korelasyon testleri Tablo 3.9'de özetlenmiştir. Lenfosit sayısı, CD4⁺ Th, Th1, Th2, Th17 hücrelerinin EGFR yüzde oranlarıyla pozitif koreleyken (sırasıyla, p = 0,02, p = 0,01, p = 0,004), CD8⁺ Tph'lerin EGFR yüzdesiyle negatif koreleydi (p = 0,01). Nötrofil sayısı ve Th2 hücrelerinin EGFR oranı arasında negatif korelasyon saptandı. Nötrofil/lenfosit oranı, CD4⁺ Th, Th1, Th2, CD8⁺ Tfh hücrelerinin EGFR yüzde oranlarıyla negatif korele (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,003, p = 0,01, p = 0,03), CD8⁺ Tph'lerin EGFR yüzde oranıyla pozitif koreleydi (p = 0,01). Serum CRP seviyesi, CD3⁺ T, CD4⁺ Th ve Th1 hücrelerinin EGFR yüzde oranlarıyla negatif korele (sırasıyla, p = 0,02, p = 0,02, p = 0,03), CD4⁺ Tfh, CD4⁺ Tph ve CD8⁺ STL'lerin EGFR yüzdeleriyle pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,03, p = 0,00, p = 0,02). Ayrıca CRP seviyesi, lenfositler, CD3⁺ T hücre, CD4⁺ Th, Th1, Th2, Th9, Th17, Th1Th17, CD4⁺ Tfh ve CD4⁺

Tph'lerinin EGFR ekspresyonlarıyla pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,001, p = 0,003, p = 0,002, p = 0,01, p = 0,01, p = 0,01, p = 0,003, p = 0,003, p = 0,00, p = 0,00). LDH seviyesi ile CD4⁺ Th ve Th17 hücrelerinin EGFR yüzdeleri arasında negatif korelasyon (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,03), CD8⁺ Tph'lerin EGFR oranı arasında pozitif korelasyon saptandı (p = 0,04). Ayrıca LDH lenfositler, CD4⁺ Th, Th2, Th9, Th17, CD4⁺ Tfh'lerinin EGFR ekspresyonlarıyla pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,02, p = 0,01, p = 0,04, p = 0,04, p = 0,03, p = 0,01). Albumin seviyesi CD4⁺ Tfh'lerinin EGFR yüzdesi/ekspresyonu ve CD4⁺ Tph'lerin EGFR yüzdesiyle negatif koreleydi (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,01, p = 0,02). CD8⁺ Tph'lerin EGFR yüzdesi ile alkalen fosfataz arasında pozitif korelasyon, albumin/alkalen fosfataz oranları arasında ise negatif korelasyon saptandı (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,03). CA 19,9 seviyesi CD4⁺ Tfh'lerinin EGFR ekspresyonu ve CD4⁺ Tph'lerin EGFR yüzde oranıyla pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,01).

Tablo 3.9. Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre yüzey EGFR ekspresyonları arasındaki korelasyonlar

KK	Ln Sayısı	Nt Sayısı	N/L Oranı	CRP	LDH	Alb.	Alkalen Fosfataz	Alb./Alk. Fosf.	CEA	CA 19,9
p										
Lenfosit										
EGFR (%)	0,23	0,06	-0,18	-0,16	-0,12	-0,12	0,18	-0,18	0,13	0,10
	0,11	0,70	0,19	0,28	0,41	0,40	0,21	0,21	0,36	0,47
EGFR (MFI)	-0,13	0,21	0,18	0,45	0,34	-0,27	0,15	-0,19	0,07	0,22
	0,36	0,14	0,19	0,001	0,02	0,05	0,28	0,18	0,65	0,12
CD3⁺ T hücre										
EGFR (%)	0,20	0,07	-0,17	-0,32	-0,12	0,06	0,16	-0,10	-0,09	-0,10
	0,16	0,61	0,24	0,02	0,40	0,68	0,25	0,49	0,54	0,50
EGFR (MFI)	-0,13	0,20	0,18	0,42	0,27	-0,25	0,10	-0,15	-0,001	0,19
	0,36	0,15	0,19	0,003	0,06	0,07	0,47	0,30	1,00	0,19
CD4⁺ Th										
EGFR (%)	0,32	-0,13	-0,38	-0,32	-0,37	0,09	-0,14	0,14	-0,19	-0,07
	0,02	0,35	0,01	0,02	0,01	0,54	0,34	0,32	0,18	0,61
EGFR (MFI)	-0,17	0,23	0,23	0,42	0,34	-0,27	0,17	-0,20	0,01	0,17
	0,23	0,11	0,09	0,002	0,01	0,05	0,24	0,15	0,96	0,24
Th1										
EGFR (%)	0,37	-0,11	-0,40	-0,32	-0,06	0,10	0,06	-0,02	-0,17	0,07
	0,01	0,45	0,003	0,03	0,69	0,50	0,66	0,99	0,25	0,64
EGFR (MFI)	-0,10	0,21	0,20	0,37	0,25	-0,18	0,12	-0,16	0,003	0,14
	0,47	0,13	0,15	0,01	0,07	0,21	0,40	0,27	0,98	0,32
Th2										
EGFR (%)	0,39	-0,38	-0,33	-0,15	-0,18	-0,14	0,05	-0,06	0,05	-0,05
	0,004	0,01	0,01	0,30	0,20	0,34	0,73	0,70	0,74	0,72
EGFR (MFI)	-0,07	0,16	0,12	0,35	0,29	-0,19	0,09	-0,12	-0,03	0,20
	0,60	0,26	0,39	0,01	0,04	0,18	0,54	0,39	0,85	0,16
Th9										
EGFR (%)	0,16	0,07	-0,16	-0,14	-0,05	0,04	-0,02	0,04	0,04	-0,13
	0,25	0,64	0,25	0,35	0,71	0,80	0,88	0,80	0,77	0,37

EGFR (MFI)	-0,06	0,16	0,14	0,38	0,29	-0,23	0,11	-0,15	0,04	0,22
	0,68	0,26	0,34	0,01	0,04	0,10	0,45	0,30	0,78	0,13
Th17										
EGFR (%)	0,31	-0,07	-0,25	-0,03	-0,31	-0,14	-0,01	-0,03	-0,03	-0,15
	0,02	0,62	0,07	0,86	0,03	0,32	0,93	0,82	0,82	0,31
EGFR (MFI)	-0,17	0,17	0,20	0,41	0,31	-0,23	0,12	-0,15	0,03	0,16
	0,24	0,21	0,15	0,003	0,03	0,10	0,42	0,28	0,83	0,25
Th1Th17										
EGFR (%)	0,08	0,03	-0,13	-0,20	0,02	0,12	-0,06	0,12	-0,02	0,13
	0,57	0,82	0,34	0,17	0,88	0,41	0,68	0,39	0,91	0,37
EGFR (MFI)	-0,12	0,14	0,16	0,42	0,24	-0,24	0,08	-0,13	-0,01	0,03
	0,43	0,32	0,26	0,003	0,10	0,09	0,59	0,38	0,93	0,86
CD4⁺ Tfh										
EGFR (%)	-0,00	-0,09	-0,02	0,31	-0,01	-0,28	0,04	-0,01	0,24	0,27
	0,99	0,54	0,88	0,03	0,92	0,04	0,77	0,34	0,10	0,06
EGFR (MFI)	-0,06	0,26	0,16	0,43	0,35	-0,37	0,14	-0,18	0,18	0,35
	0,69	0,06	0,27	0,00	0,01	0,01	0,34	0,20	0,22	0,01
CD4⁺ Tph										
EGFR (%)	-0,12	-0,03	0,12	0,30	0,25	-0,33	0,13	-0,22	0,13	0,34
	0,38	0,83	0,38	0,03	0,07	0,02	0,35	0,12	0,37	0,01
EGFR (MFI)	0,09	0,11	0,01	0,43	0,24	-0,24	0,01	-0,06	0,08	0,06
	0,54	0,42	0,97	0,00	0,09	0,09	0,97	0,70	0,57	0,66
CD8⁺ STL										
EGFR (%)	0,23	0,01	-0,20	0,33	0,09	-0,22	0,07	-0,11	0,21	0,04
	0,09	0,96	0,16	0,02	0,55	0,11	0,62	0,45	0,15	0,80
EGFR (MFI)	0,04	-0,14	-0,18	0,19	0,07	-0,12	-0,18	0,15	-0,20	-0,16
	0,76	0,35	0,20	0,20	0,63	0,42	0,20	0,30	0,18	0,29
CD8⁺ Tfh										
EGFR (%)	0,21	-0,15	-0,29	0,13	-0,19	-0,06	-0,09	0,06	-0,03	-0,09
	0,13	0,28	0,03	0,35	0,18	0,67	0,55	0,65	0,82	0,53
EGFR (MFI)	0,16	-0,16	-0,28	-0,03	-0,22	0,00	-0,12	0,10	-0,05	-0,08
	0,28	0,25	0,05	0,87	0,12	1,00	0,41	0,47	0,75	0,58
CD8⁺ Tph										
EGFR (%)	-0,35	0,13	0,34	0,12	0,29	0,02	0,37	-0,29	0,12	0,26
	0,01	0,34	0,01	0,40	0,04	0,88	0,01	0,03	0,40	0,07
EGFR (MFI)	0,15	-0,01	-0,13	0,16	-0,03	-0,19	-0,09	0,03	-0,02	0,03
	0,30	0,95	0,37	0,27	0,84	0,17	0,52	0,82	0,89	0,82

Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre yüzey VEGFR ekspresyonları arasındaki korelasyon testleri Tablo 3.10'da özetlenmiştir. Lenfosit sayısı, CD4⁺ Tph'lerin VEGFR yüzdesi ve lenfositlerin, CD3⁺ T ile Th2 hücrelerinin VEGFR ekspresyonlarıyla negatif koreleydi (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,04, p = 0,03, p = 0,04). Nötrofil sayısı ile Th2, Th9, CD8⁺ Tfh'lerin VEGFR ekspresyonları ve CD8⁺ Tfh'lerin VEGFR yüzde oranı arasında pozitif korelasyon saptandı (sırasıyla, p = 0,03, p = 0,04, p = 0,01, p = 0,01). Nötrofil/lenfosit oranı, lenfosit, CD3⁺ T hücre, CD4⁺ Th, Th2, CD4⁺ Tfh'lerinin VEGFR ekspresyonları ve CD4⁺ Tph ile CD8⁺ Tfh'lerinin VEGFR yüzde oranıyla pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,01, p = 0,01, p = 0,00, p = 0,02, p = 0,04, p = 0,02). Serum CRP seviyesi ile CD8⁺ STL'lerin VEGFR yüzdesi ve CD8⁺ Tph'lerin VEGFR ekspresyonları arasında pozitif korelasyon izlendi (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,04). LDH, Th9 hücrelerinin VEGFR ekspresyonları ve CD8⁺ STL'ler ile CD8⁺ Tfh'lerin VEGFR yüzdesiyle pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,04, p = 0,01). Albumin seviyesi ile CD8⁺ Tph'lerin VEGFR ekspresyonları arasında negatif korelasyon saptandı (p = 0,04). Alkalen fosfataz seviyesi lenfosit, CD3⁺ T hücre, Th2 ve Th17 hücrelerinin VEGFR ekspresyonları ile CD4⁺ ve CD8⁺ Tph'lerin VEGFR yüzde oranıyla pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,02, p = 0,04, p = 0,04, p = 0,04, p = 0,01, p = 0,00). Albumin/alkalen fosfataz oranı ile CD4⁺ ve CD8⁺ Tph'lerin VEGFR yüzdesi arasında negatif korelasyon izlendi (sırasıyla, p = 0,03, p = 0,00). CEA seviyesi ve CD8⁺ Tph'lerin VEGFR yüzdesi arasında pozitif korelasyon izlendi (p = 0,02).

Tablo 3.10. Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre yüzey VEGFR ekspresyonları arasındaki korelasyonlar

KK	Ln	Nt	N/L	CRP	LDH	Alb.	Alkalemin	Alb./Alk.	CEA	CA
p	Sayısı	Sayısı	Oran				Fosfataz	Fosf.		19,9
Lenfosit										
VEGFR (%)	0,20	-0,21	-0,26	0,01	-0,17	-0,03	-0,07	0,03	-0,10	0,03
	0,15	0,14	0,07	0,93	0,23	0,86	0,62	0,83	0,49	0,82
VEGFR (MFI)	-0,28	0,23	0,35	-0,05	0,17	0,02	0,32	-0,24	0,03	-0,09
	0,04	0,10	0,01	0,75	0,24	0,89	0,02	0,08	0,81	0,53
CD3⁺ T hücre										
VEGFR (%)	0,14	-0,19	-0,18	-0,08	-0,07	0,03	0,03	0,07	0,00	0,09
	0,33	0,18	0,20	0,57	0,61	0,86	0,83	0,63	1,00	0,52
VEGFR (MFI)	-0,30	0,22	0,35	-0,09	0,14	0,14	0,29	-0,17	0,01	-0,10
	0,03	0,11	0,01	0,52	0,34	0,32	0,04	0,23	0,95	0,50
CD4⁺ Th										
VEGFR (%)	-0,01	-0,09	-0,04	-0,04	-0,09	0,14	-0,05	0,12	-0,05	0,04
	0,96	0,52	0,76	0,78	0,52	0,31	0,75	0,38	0,74	0,78
VEGFR (MFI)	-0,28	0,21	0,35	-0,09	0,13	0,14	0,28	0,12	-0,00	-0,12
	0,05	0,13	0,01	0,54	0,36	0,31	0,05	0,38	0,98	0,42
Th1										
VEGFR (%)	0,10	-0,19	-0,15	-0,01	0,05	0,05	-0,15	0,14	-0,05	0,08
	0,47	0,18	0,28	0,92	0,72	0,73	0,30	0,32	0,75	0,56
VEGFR (MFI)	-0,16	0,15	0,18	-0,24	0,09	0,22	0,09	0,01	-0,17	-0,14
	0,27	0,29	0,19	0,09	0,52	0,12	0,53	0,96	0,25	0,34
Th2										
VEGFR (%)	-0,18	-0,10	0,07	0,04	-0,18	0,14	-0,12	0,08	-0,04	-0,08
	0,20	0,50	0,63	0,81	0,20	0,32	0,38	0,59	0,81	0,59
VEGFR (MFI)	-0,29	0,31	0,41	-0,01	0,16	0,12	0,29	-0,18	0,11	-0,06
	0,04	0,03	0,00	0,97	0,25	0,39	0,04	0,22	0,44	0,68
Th9										
VEGFR (%)	0,26	0,06	-0,16	0,20	0,09	-0,20	-0,12	0,04	0,02	0,17
	0,06	0,67	0,27	0,16	0,55	0,17	0,42	0,80	0,89	0,25
VEGFR (MFI)	-0,12	0,29	0,25	-0,10	0,36	0,06	0,23	-0,18	0,03	-0,03
	0,39	0,04	0,07	0,51	0,01	0,66	0,11	0,21	0,82	0,82
Th17										
VEGFR (%)	-0,05	0,03	0,02	0,07	-0,09	0,02	-0,08	0,01	0,06	0,02
	0,73	0,82	0,90	0,63	0,51	0,92	0,56	0,92	0,70	0,92
VEGFR	-0,27	0,10	0,25	-0,17	0,08	0,16	0,28	-0,12	-0,10	-0,13

(MFI)	0,05	0,47	0,07	0,23	0,59	0,27	0,04	0,41	0,51	0,36
Th1Th17										
VEGFR (%)	0,21	0,06	-0,12	0,21	-0,01	-0,10	-0,16	0,12	-0,07	0,06
	0,13	0,68	0,40	0,15	0,95	0,46	0,26	0,40	0,62	0,69
VEGFR (MFI)	-0,14	0,28	0,26	-0,04	0,25	0,02	0,18	-0,11	-0,01	0,01
	0,32	0,05	0,06	0,78	0,07	0,90	0,21	0,43	0,96	0,94
CD4⁺ Tfh										
VEGFR (%)	-0,09	-0,06	0,02	-0,14	-0,01	0,16	-0,01	0,04	0,28	0,12
	0,53	0,66	0,88	0,35	0,96	0,27	0,97	0,80	0,05	0,42
VEGFR (MFI)	-0,28	0,16	0,32	0,17	0,20	-0,26	0,21	-0,22	-0,13	-0,07
	0,05	0,26	0,02	0,25	0,17	0,07	0,14	0,12	0,36	0,63
CD4⁺ Tph										
VEGFR (%)	-0,34	0,11	0,28	-0,09	0,13	0,01	0,35	-0,30	0,06	0,18
	0,01	0,46	0,04	0,53	0,35	0,92	0,01	0,03	0,70	0,20
VEGFR (MFI)	0,08	-0,01	-0,07	-0,11	-0,03	0,20	0,12	0,00	0,05	-0,05
	0,59	0,97	0,61	0,47	0,86	0,16	0,39	0,99	0,75	0,75
CD8⁺ STL										
VEGFR (%)	0,14	0,22	0,04	0,29	0,28	0,14	0,13	0,12	0,21	-0,05
	0,33	0,11	0,80	0,04	0,04	0,31	0,34	0,38	0,14	0,74
VEGFR (MFI)	0,03	-0,04	0,03	0,14	-0,00	-0,15	0,02	-0,04	-0,22	-0,23
	0,85	0,78	0,85	0,32	0,98	0,29	0,92	0,76	0,12	0,11
CD8⁺ Tfh										
VEGFR (%)	-0,16	0,38	0,33	0,22	0,35	-0,17	0,28	-0,26	0,18	0,17
	0,25	0,01	0,02	0,13	0,01	0,23	0,05	0,07	0,22	0,24
VEGFR (MFI)	-0,03	0,37	0,23	0,03	0,18	-0,10	0,14	-0,13	-0,11	-0,20
	0,81	0,01	0,10	0,85	0,21	0,48	0,33	0,38	0,45	0,16
CD8⁺ Tph										
VEGFR (%)	-0,19	0,17	0,27	0,21	0,26	-0,17	0,41	-0,39	0,33	0,22
	0,17	0,22	0,06	0,14	0,06	0,24	0,00	0,00	0,02	0,12
VEGFR (MFI)	0,18	0,12	-0,04	0,29	-0,00	-0,29	0,05	-0,13	-0,01	-0,11
	0,22	0,41	0,80	0,04	0,99	0,04	0,71	0,36	0,92	0,46

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada; tedavi almamış yeni tanı kolon kanserli hastaların periferik kanlarında Th1, Th2, Th17, Tfh, ve STL'leri içeren T lenfosit alt gruplarının yüzde oranları belirlendi ve Th1, Th2, Th17 alt gruplarının VEGFR ve EGFR yüzey ekspresyonlarının prognostik biyobelirteçlerle ilişkisi araştırıldı. Akım sitometrik analizlerde CD3+ tüm T hücreler, CD3+CD4+ yardımcı T hücreler ve CD3+CD8+ sitotoksik T hücrelerinin yüzeylerinde CXCR3, CCR4, CXCR5, CCR6 ve PD-1 ekspresyonları yüzde ve ortalama floresan yoğunluğu (MFI) değerlendirildi. CD3+ T hücre, yardımcı T ve sitotoksik T lenfositler ile bunların alt gruplarında EGFR ve VEGFR yüzey ekspresyonları, yüzde ve ortanca floresan yoğunluğu (MFI) olarak saptandı. Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre alt grupları ve hücre yüzey EGFR ve VEGFR ekspresyonları arasındaki korelasyonlar belirlendi.

Çalışmamızda Th1 hücreleri kolon kanserli hastalarda kontrol grubuna göre yüksek, CD4⁺ Tfh'leri ise düşük saptandı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,003). İleri evre hastalarda Th1 hücreleri kontrole göre daha yüksek ve CD4⁺Tfh'leri ise daha düşüktü (p = 0,01). CD8⁺ Tfh'lerinde ileri evre hastalarda erken evre hastalara göre artış saptandı (p = 0,02). Th1 hücrelerinin kanser hücresi proliferasyonunu azaltabildiği gösterilmiştir (Brenner ve ark 2020). Th1 hücrelerinin ve bunlardan türetilen sitokinlerin kolon kanseri dokusuna infiltrasyonunun kanser hücrelerinin apoptozunu artırabildiği, anjiyogenezi azaltabildiği ve sitotoksik CD8⁺ T hücrelerini ortama toplayabildiğinden, bu durum genellikle daha iyi prognozla ilişkilidir (Rentschler ve ark 2022). Solid tümörlerde CD4⁺ Tfh'leri infiltrasyonu ile ilgili yeterli veri yoktur. Tümör dokusunda Tfh hücrelerin artışının kolon kanserinde iyi prognozla ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Schürch ve ark 2020). Çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak Tfh'leri periferik kan dokusunda değerlendirdik. İleri evre hastalarda CD8⁺ Tfh'lerinde artış olması bu evredeki hastalarda sitotoksik CD8⁺ T hücrelerinin rtması ile ilişkili olabilir. Bununla birlikte, bu durumun hastalık prognozuna bir etkisi olup olmadığını, çalışmamızdaki hastaları prognoz açısından yeterli süre takip edemediğimizden söyleyemiyoruz.

Kolon kanserli hastaların CD3⁺ T hücre ve CD4⁺ Th hücrelerinde EGFR yüzde oranı kontrole göre düşüktü (sırasıyla, p = 0,001, p = 0,03). Lenfosit, CD3⁺ T hücre, CD4⁺ Th, Th1, Th2, Th17 ve CD4⁺ Tfh hücrelerinin EGFR yüzey ekspresyonunda ise artış saptandı (sırasıyla, p = 0,03, p = 0,03, p = 0,02, p = 0,03, p = 0,03, p = 0,03, p = 0,02). Kontrol grubunda CD8⁺ Tph'lerde EGFR ekspresyonu saptanmadı. EGFR, T hücrelerinde glikolizi kontrol eden önemli bir enzim olan Glut1 aracılığıyla CD4⁺ T hücresi aktivasyonunu ve apoptozu kolaylaştırır (Huang ve ark 2023). Huang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, sepsis kaynaklı apoptoz EGFR ile ilişkili bulunmuştur. EGFR, Glut1'in hücre yüzeyine taşınmasını düzenler, bu da Warburg etkisini ve ardından CD4⁺ T lenfositlerinin hücrel aktivasyonunu ve apoptozunu indüklemek için önemli bir adımdır ve nihayetinde immün fonksiyonel durumu etkileyerek sepsiste immün hücre tükenmesine neden olabilir. Bu durum, CD4⁺ T hücrelerinin azalması da dahil olmak üzere lenfopeniye yol açarak immüno-supresyonu desteklemektedir. Bizim çalışmamızda da kolon kanserli hastalarda kontrol grubuna göre istatistiki anlamlılık sınırında lenfopeni mevcut idi. Dolayısıyla, kolon kanserli hastalarda EGFR ekspresyonları sepsiste olduğu gibi lenfopeniye yol açarak immüno-supresyona neden olabilir.

İleri evre kolon kanserli hastalarda CD3⁺ T hücrelerinin EGFR yüzde oranı kontrol grubuna göre düşüktü ve CD4⁺ Tfh'lerin EGFR ekspresyonlarında ise artış saptandı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,02). Erken evre hastaların CD4⁺ Th, Th1, Th2 ve Th17 hücrelerinin EGFR ekspresyonları kontrol grubuna göre artmıştı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,02, p = 0,02, p = 0,04). İleri evre kolon kanserli hastalarda CD8⁺ Tph hücrelerinin EGFR yüzde oranında kontrole göre artış saptandı (p = 0,02). PD-1, CD8⁺ T-hücresi tükenmesinin merkezi bir düzenleyicisidir ve bu inhibitör yolun bloke edilmesi, kronik viral enfeksiyonlarda ve kanserde T-hücresi bağışıklığını artırır. Kronik olarak enfekte farelerdeki PD-1⁺CXCR5⁺ ve PD-1⁺CXCR5⁻ CD8⁺ T (CD8⁺ Tph) hücrelerinin farklı gen imzalarına sahip olduğunu ortaya konmuştur (Im ve ark 2016). PD-1 inhibitör yolunun bloke edilmesinin CXCR5⁻CD8⁺ T hücreleri üzerinde minimal etkisi olmuştur. Buna karşılık, CXCR5⁺CD8⁺ T hücreleri PD-1 blokajına yanıt vermiş ve anti-PD-L1 antikoru ile tedavi edilen farelerde önemli ölçüde daha yüksek sayılarda bulunmuştur. Bizim çalışmamızda, ileri evre kolon kanserli hastalarda CD8⁺ Tph hücrelerinin EGFR yüzde oranında kontrole göre artış saptanması, tükenmiş ve PD-1 inhibitör tedavisine cevap oluşturmayacak hastaların

ileri evrede olduğunun bir göstergesi olabilir. Bu durum ileri evre kolon kanserli hastaların neden genel olarak anti-PD-1 antikor tedavisine yanıt vermediklerinin bir açıklaması olabilir. Yine erken evre hastalarda T hücre alt gruplarında izlenen EGFR ekspresyon artışları da bu hücrelerin inhibisyonuyla sonuçlanabilir.

Kolon kanserli hastalarda CD3⁺ T hücre ve CD4⁺ Tfh'lerin VEGFR yüzde oranı ile CD4⁺ Tph'lerin VEGFR ekspresyonu kontrol grubuna göre düşüktü (sırasıyla, p = 0,047, p = 0,04, p = 0,049). Th1, Th2, CD4⁺ Tfh, CD8⁺ STL ve CD8⁺ Tfh'lerinin VEGFR ekspresyonları kontrole göre artmıştı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,03, p = 0,002, p = 0,00, p = 0,04). Bizim çalışmamızda VEGFR-2 ekspresyonları değerlendirilmiştir. Üç VEGF reseptörü arasında VEGFR-2 veya KDR, yeni antikanser ajanlar geliştirmek için üzerinde fazlaca çalışılmış bir hedeftir. KDR geni VEGFR-2'yi kodlar ve endotel hücrelerde aşırı eksprese edilir. VEGFR-2, VEGF-A'nın bağlanmasından sonra aktive olur ve endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonunun artmasıyla sonuçlanan bir fosforilasyon sürecini başlatır (Shibuya 2011). VEGFR-2, normal endotel hücrelerine kıyasla neovasküler tümör endotel hücrelerinde aşırı eksprese edilir (Cortés ve ark 1999). KDR aşırı ekspresyonu, meme kanseri, kolorektal kanser, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, ürotelyal kanser, malign melanom, B hücreli lenfoma gibi farklı kanser türlerinde de gözlenmektedir. (Duff ve ark 2006). Farelerde oluşturulan melanomada VEGF sinyalinin sunitinib tedavisi ile engellenmesi, tümör damarlarında CXCL10 ve CXCL11'in artışı ile sonuçlanmış ve buna tümörlerinde CD3⁺ T-lenfositlerinin 18 kata kadar artan infiltrasyonu eşlik etmiştir (Huang ve ark 2015). VEGF sinyali T-hücresi gelişimini, homing ve sitotoksik fonksiyonlarını doğrudan etkiler. Ayrıca VEGF, anormal tümör vaskülatürü oluşumunun uyarılması yoluyla lenf düğümlerinden tümör yatağına T-hücresi göçünü olumsuz yönde etkiler (Yang ve ark 2018). VEGF/VEGFR-2 ayrıca CD3⁺ T-hücrelerini ve sitotoksik etkileri de baskılar. Ayrıca VEGFA, VEGFR-2 ve aktive T-hücrelerinin nükleer faktörüne bağlı bir şekilde programlanmış hücre ölümü protein-1 (PD-1) reseptörleri gibi negatif immün kontrol noktalarının ekspresyonu yoluyla karakterize edilen CD8⁺ T-hücresi tükenmesine katkıda bulunur (Kim ve ark 2019). Bizim çalışmamızda kolon kanserli hastalarda T lenfosit alt gruplarında VEGFR ekspresyonları artışı tümöre T hücre göçünün olumsuz etkilendiğini ve sitotoksik fonksiyonların azaldığını gösterebilmektedir.

Çalışmamızda, erken evre hastaların Th1, Th17, CD4⁺ Tfh ve CD8⁺ Tfh hücrelerinin VEGFR ekspresyonları ileri evre hastalar ve kontrol grubuna göre artmıştı (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,04, p = 0,00, p = 0,01). Bu sonuçlar, T hücre göçünün hastalığın en başında erken evrede olumsuz etkilendiğine işaret etmektedir. CD4⁺ Tph ve CD8⁺ STL'lerin VEGFR ekspresyonları erken evre kolon kanserli hastalarda ileri evre hastalara göre azalmıştı (sırasıyla, p = 0,04, p = 0,04). İleri evre hastalıkta erken evreye kıyasla CD8⁺ STL'lerin tümör dokusuna göçünün daha fazla olabildiğinin indirekt bir kanıtını göstermektedir. İleri evre hastalarda CD4⁺ Tph VEGFR ekspresyonu kontrole göre azalmışken; CD8⁺ STL'lerin VEGFR ekspresyonunda artış saptandı (sırayla, p = 0,01, p = 0,04). Sağlıklı bireylere göre ileri evre kolon kanserli hastalarda immün hücrelerinin göçü yavaşlamış olarak değerlendirilebilir.

Kemokin reseptörleriyle ilgili olarak özellikle lenfositlerin ve CD3⁺ T hücrelerinin CXCR5 yüzde oranı kolon kanserli hastalarda kontrole göre düşüktü (sırasıyla, p = 0,00, p = 0,01). Bu CXCR5 yüzde oranının kanserli hastalarda düşük olması, kanserli hastalarda tükenmiş T hücrelerinin varlığını işaret etmektedir (Turner ve ark 2022). Üstelik bu hücreler immünoterapiye daha dirençli hücrelerdir. Diğer taraftan, CCR6 yüzde oranı tüm hastalarda ve erken evredeki hastalarda kontrole göre düşük izlendi. CCR6⁺ Th hücreleri ve bu hücrelere özgü sitokinlerin aşırı üretimini kalıcı enflamasyon ve otoimmün hastalıklarla ilişkili oldukları gösterilmiştir (Paulissen ve ark 2015). Bu durum kolon kanserinde inflamasyonun değil, kanser hücrelerine karşı bir immün toleransın daha ön planda olduğunu göstermektedir.

Korelasyon testlerine göre lenfosit sayısı Th17 ve CD4⁺ Tfh ile negatif koreleydi (sırasıyla p = 0,01, p = 0,02). Bizim çalışmamızda kolon kanserlin hastalarda CD4⁺ Tfh hücreleri kontrol grubuna göre düşük tespit edilmişti. Th17 hücre sayısında ise kontrol grubuna göre fark yoktu. Bu sonuçlar bize bir kez daha kolon kanserinde inflamasyonun değil immün toleransın daha ön planda olduğunu göstermektedir. Nötrofil/lenfosit oranı, CD3⁺ T hücreler ile negatif korele (p = 0,01); Th17 ve CD4⁺ Tfh'ler ile pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,004, p = 0,01). Periferik kanda ölçülen nötrofil ve lenfosit sayıları arasında basit bir oran olarak hesaplanan

nötrofil/lenfosit oranı (NLR), bağışıklık sisteminin iki yüzünü birleştiren bir biyobelirteçtir. Esas olarak nötrofillere bağlı olan doğuştan gelen bağışıklık yanıtı ile lenfositler tarafından desteklenen adaptif bağışıklık yanıtını basit bir şekilde karşılaştırmakta kullanılmaktadır (Song ve ark 2021). NLR oranının artışının birçok kanserde olduğu gibi kolon kanserinde de kötü bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (Cha ve ark 2019). Bizim çalışmamızda Th17 ve NLR arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Th1 ve Th2 hücrelerinden farklı olarak Th17 hücreleri tarafından IL-17 üretilir. Son araştırmalar, IL-17 sinyalinin tümör büyümesini desteklediğini göstermiştir (Grivennikov ve ark 2012). Nötrofil/lenfosit oranı, CD4⁺ Th, Th1, Th2, CD8⁺ Tfh hücrelerinin EGFR yüzde oranlarıyla negatif korele (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,003, p = 0,01, p = 0,03), CD8⁺ Tph'lerin EGFR yüzde oranıyla pozitif koreleydi (p = 0,01). Daha önce belirttiğimiz gibi T hücrelerinde EGFR ekspresyonu T hücrelerinin apoptozisini kolaylaştırmaktadır. NLR oranının yükselmesine sıklıkla lenfosit sayısında düşüklük neden olabilmektedir. Bu durumda, EGFR ekspresyonu azalarak T hücre kaybının azaltılması homeostasis açısından önemli olabilir. Nötrofil/lenfosit oranı, lenfosit, CD3⁺ T hücre, CD4⁺ Th, Th2, CD4⁺ Tfh'lerinin VEGFR ekspresyonları ve CD4⁺ Tph ile CD8⁺ Tfh'lerinin VEGFR yüzde oranıyla pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,01, p = 0,01, p = 0,00, p = 0,02, p = 0,04, p = 0,02). NLR düzeyi artarken T hücrelerin tümör dokusuna göçünün bozulduğunu indirekt olarak gösteren bu korelasyonlar, NLR düzeyi artışı ve klinik kötü prognoz arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamamızı sağlamaktadır.

Kolon kanserli hastaların hemogram ve biyokimyasal testleri ile T hücre PD-1 ekspresyonlarının korelasyon analizlerinde STL'lerin PD-1 oranı, lenfosit sayısı ve CEA seviyesiyle pozitif koreleydi (sırasıyla, p = 0,01, p = 0,03). STL'lerin PD-1 oranındaki artış bu lenfositlerin inhibisyona açık olabilecekleri anlamına gelmektedir. CEA düzeyi kolon kanseri için kötü prognostik bir biyobelirteçtir (Auclin ve ark 2019). CEA düzeyi ile sitotoksik lenfositlerin PD-1 ekspresyonu arasındaki bu pozitif korelasyon prognoz bu hastalarda neden daha kötü olduğunu anlamamız açısından oldukça önemlidir. Bizim çalışmamızda, CEA seviyesi ve CD8⁺ Tph'lerin VEGFR yüzdesi arasında pozitif korelasyon izlendi (p = 0,02). CEA seviyesi artıkça tükenmiş sitotoksik lenfositlerin göçünün bozulması, CEA seviyesi ile kötü prognoz arasındaki ilişkinin nedeni konusunda bize fikir vermektedir. Çalışmamızda hastaları prognozlarını belirleyebilmek için yeterli süre takip

edemedik ancak bilinen prognostik belirteçlerle ilişkili sonuçlarımız bize bu belirteçlerle ilgili altta yatan muhtemel patofizyolojik ilişkiler konusunda fikir vermektedir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada literatürde ilk defa olarak, kolon kanserli hastaların periferik kanlarında Th1, Th2, Th17, Tfh, ve STL T lenfosit alt gruplarının yüzde oranları ile Th1, Th2, Th17 alt gruplarının VEGFR ve EGFR yüzey ekspresyonları incelendi. Kolon kanserinde periferik T lenfosit alt gruplarında inflamatuvar yanıtlar ve immün tolerans ilişkisinde lenfosit yüzeyindeki VEGFR ve EGFR yüzey ekspresyonlarının önemi ortaya kondu. Lenfosit yüzeyindeki bu reseptörlerin kolon kanseri ile ilişkili prognostik biyobelirteçlerle ilişkisi değerlendirilerek literatüre önemli bir katkı sağlanmıştır. Bu konuda T lenfosit alt gruplarıyla hastaların prognozlarını irdeleyen daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. KAYNAKLAR

- Advani SM, Advani PS, Brown DW, DeSantis SM, Korphaisarn K, VonVille HM, Bressler J, Lopez DS, Davis JS, Daniel CR, Sarshekeh AM, Braithwaite D, Swartz MD, Kopetz S, 2019. Global differences in the prevalence of the CpG island methylator phenotype of colorectal cancer. *BMC Cancer*, 19, 1, 964.
- Ahechu P, Zozaya G, Martí P, Hernández-Lizoáin JL, Baixauli J, Unamuno X, Frühbeck G, Catalán V, 2018. NLRP3 Inflammasome: A Possible Link Between Obesity-Associated Low-Grade Chronic Inflammation and Colorectal Cancer Development. *Front Immunol*, 9, 2918.
- Ahluwalia A, Jones MK, Matysiak-Budnik T, Tarnawski AS, 2014. VEGF and colon cancer growth beyond angiogenesis: does VEGF directly mediate colon cancer growth via a non-angiogenic mechanism? *Curr Pharm Des*, 20, 7, 1041-4.
- Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, Juan T, Sikorski R, Suggs S, Radinsky R, Patterson SD, Chang DD, 2008. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 26, 10, 1626-34.
- Anderson KG, Stromnes IM, Greenberg PD, 2017. Obstacles Posed by the Tumor Microenvironment to T cell Activity: A Case for Synergistic Therapies. *Cancer Cell*, 31, 3, 311-25.
- Auclin E, André T, Taieb J, Banzi M, Van Laethem JL, Tabernero J, Hickish T, de Gramont A, Vernerey D, 2019. Association of post-operative CEA with survival and oxaliplatin benefit in patients with stage II colon cancer: a post hoc analysis of the MOSAIC trial. *Br J Cancer*, 121, 4, 312-7.
- Boland CR, Goel A, 2010. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*, 138, 6, 2073-87.e3.
- Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, Meltzer SJ, Rodriguez-Bigas MA, Fodde R, Ranzani GN, Srivastava S, 1998. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*, 58, 22, 5248-57.
- Bonasio R, Tu S, Reinberg D, 2010. Molecular signals of epigenetic states. *Science*, 330, 6004, 612-6.

- Bonecchi R, Bianchi G, Bordignon PP, D'Ambrosio D, Lang R, Borsatti A, Sozzani S, Allavena P, Gray PA, Mantovani A, Sinigaglia F, 1998. Differential expression of chemokine receptors and chemotactic responsiveness of type 1 T helper cells (Th1s) and Th2s. *J Exp Med*, 187, 1, 129-34.
- Bos JL, Fearon ER, Hamilton SR, Verlaan-de Vries M, van Boom JH, van der Eb AJ, Vogelstein B, 1987. Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers. *Nature*, 327, 6120, 293-7.
- Brenner E, Schörg BF, Ahmetlić F, Wieder T, Hilke FJ, Simon N, Schroeder C, Demidov G, Riedel T, Fehrenbacher B, Schaller M, Forscher A, Eigentler T, Niessner H, Sinnberg T, Böhm KS, Hömberg N, Braumüller H, Dauch D, Zwirner S, Zender L, Sonanini D, Geishauser A, Bauer J, Eichner M, Jarick KJ, Beilhack A, Biskup S, Döcker D, Schadendorf D, Quintanilla-Martinez L, Pichler BJ, Kneilling M, Mocikat R, Röcken M, 2020. Cancer immune control needs senescence induction by interferon-dependent cell cycle regulator pathways in tumours. *Nature Communications*, 11, 1, 1335.
- Burt R, 2007. Inheritance of Colorectal Cancer. *Drug Discov Today Dis Mech*, 4, 4, 293-300.
- Cha YJ, Park EJ, Baik SH, Lee KY, Kang J, 2019. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes and neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with stage III colon cancer who underwent surgery followed by FOLFOX chemotherapy. *Sci Rep*, 9, 1, 11617.
- Coppedè F, Lopomo A, Spisni R, Migliore L, 2014. Genetic and epigenetic biomarkers for diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer. *World J Gastroenterol*, 20, 4, 943-56.
- Cortés F, Debacker C, Péault B, Labastie M-C, 1999. Differential expression of KDR/VEGFR-2 and CD34 during mesoderm development of the early human embryo. *Mechanisms of Development*, 83, 1, 161-4.
- Crotty S, 2019. T Follicular Helper Cell Biology: A Decade of Discovery and Diseases. *Immunity*, 50, 5, 1132-48.
- Curiel TJ, Wei S, Dong H, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, Krzysiek R, Knutson KL, Daniel B, Zimmermann MC, David O, Burow M, Gordon A, Dhurandhar N, Myers L, Berggren R, Hemminki A, Alvarez RD, Emilie D, Curiel DT, Chen L, Zou W, 2003. Blockade of B7-H1 improves myeloid dendritic cell-mediated antitumor immunity. *Nat Med*, 9, 5, 562-7.

- de Castro-Carpeño J, Belda-Iniesta C, Casado Sáenz E, Hernández Agudo E, Feliu Batlle J, González Barón M, 2008. EGFR and colon cancer: a clinical view. *Clin Transl Oncol*, 10, 1, 6-13.
- Dolff S, Witzke O, Wilde B, 2019. Th17 cells in renal inflammation and autoimmunity. *Autoimmun Rev*, 18, 2, 129-36.
- Downward J, 2003. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 3, 1, 11-22.
- Duff SE, Jeziorska M, Rosa DD, Kumar S, Haboubi N, Sherlock D, O'Dwyer ST, Jayson GC, 2006. Vascular endothelial growth factors and receptors in colorectal cancer: Implications for anti-angiogenic therapy. *European Journal of Cancer*, 42, 1, 112-7.
- Fearon ER, Vogelstein B, 1990. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61, 5, 759-67.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F, 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*, 136, 5, E359-86.
- Ferrara N, 2002. Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin Oncol*, 29, 6 Suppl 16, 10-4.
- Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Speizer FE, Willett WC, 1994. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med*, 331, 25, 1669-74.
- Gavalas NG, Tsiatas M, Tsitsilonis O, Politi E, Ioannou K, Ziogas AC, Rodolakis A, Vlahos G, Thomakos N, Haidopoulos D, Terpos E, Antsaklis A, Dimopoulos MA, Bamias A, 2012. VEGF directly suppresses activation of T cells from ascites secondary to ovarian cancer via VEGF receptor type 2. *Br J Cancer*, 107, 11, 1869-75.
- Gentles AJ, Newman AM, Liu CL, Bratman SV, Feng W, Kim D, Nair VS, Xu Y, Khuong A, Hoang CD, Diehn M, West RB, Plevritis SK, Alizadeh AA, 2015. The prognostic landscape of genes and infiltrating immune cells across human cancers. *Nat Med*, 21, 8, 938-45.

- Gonzalez H, Hagerling C, Werb Z, 2018. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes Dev*, 32, 19-20, 1267-84.
- Grady WM, Carethers JM, 2008. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*, 135, 4, 1079-99.
- Grivnenkov SI, Wang K, Mucida D, Stewart CA, Schnabl B, Jauch D, Taniguchi K, Yu GY, Osterreicher CH, Hung KE, Datz C, Feng Y, Fearon ER, Oukka M, Tessarollo L, Coppola V, Yarovinsky F, Cheroutre H, Eckmann L, Trinchieri G, Karin M, 2012. Adenoma-linked barrier defects and microbial products drive IL-23/IL-17-mediated tumour growth. *Nature*, 491, 7423, 254-8.
- Gurram RK, Zhu J, 2019. Orchestration between ILC2s and Th2 cells in shaping type 2 immune responses. *Cell Mol Immunol*, 16, 3, 225-35.
- Holland SM, DeLeo FR, Elloumi HZ, Hsu AP, Uzel G, Brodsky N, Freeman AF, Demidowich A, Davis J, Turner ML, Anderson VL, Darnell DN, Welch PA, Kuhns DB, Frucht DM, Malech HL, Gallin JI, Kobayashi SD, Whitney AR, Voyich JM, Musser JM, Woellner C, Schäffer AA, Puck JM, Grimbacher B, 2007. STAT3 mutations in the hyper-IgE syndrome. *N Engl J Med*, 357, 16, 1608-19.
- Huang H, Langenkamp E, Georganaki M, Loskog A, Fuchs PF, Dieterich LC, Kreuger J, Dimberg A, 2015. VEGF suppresses T-lymphocyte infiltration in the tumor microenvironment through inhibition of NF- κ B-induced endothelial activation. *Faseb j*, 29, 1, 227-38.
- Huang L, Zhang X, Fan J, Liu X, Luo S, Cao D, Liu Y, Xia Z, Zhong H, Chen C, Zhang L, Liu Z, Tang J, 2023. EGFR promotes the apoptosis of CD4⁺ T lymphocytes through TBK1/Glut1 induced Warburg effect in sepsis. *Journal of Advanced Research*, 44, 39-51.
- Im SJ, Hashimoto M, Gerner MY, Lee J, Kissick HT, Burger MC, Shan Q, Hale JS, Lee J, Nasti TH, Sharpe AH, Freeman GJ, Germain RN, Nakaya HI, Xue H-H, Ahmed R, 2016. Defining CD8⁺ T cells that provide the proliferative burst after PD-1 therapy. *Nature*, 537, 7620, 417-21.
- Irabor DO, 2017. Emergence of Colorectal Cancer in West Africa: Accepting the Inevitable. *Niger Med J*, 58, 3, 87-91.

- Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM, 2010. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 19, 8, 1893-907.
- Jen J, Kim H, Piantadosi S, Liu ZF, Levitt RC, Sistonen P, Kinzler KW, Vogelstein B, Hamilton SR, 1994. Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med*, 331, 4, 213-21.
- Kapitanović S, Cacev T, Radosević S, Spaventi S, Spaventi R, Pavelić K, 2004. APC gene loss of heterozygosity, mutations, E1317Q, and I1307K germ-line variants in sporadic colon cancer in Croatia. *Exp Mol Pathol*, 77, 3, 193-200.
- Kim CG, Jang M, Kim Y, Leem G, Kim KH, Lee H, Kim T-S, Choi SJ, Kim H-D, Han JW, Kwon M, Kim JH, Lee AJ, Nam SK, Bae S-J, Lee SB, Shin SJ, Park SH, Ahn JB, Jung I, Lee KY, Park S-H, Kim H, Min BS, Shin E-C, 2019. VEGF-A drives TOX-dependent T cell exhaustion in anti-PD-1-resistant microsatellite stable colorectal cancers. *Science Immunology*, 4, 41, eaay0555.
- Kim CG, Jang M, Kim Y, Leem G, Kim KH, Lee H, Kim TS, Choi SJ, Kim HD, Han JW, Kwon M, Kim JH, Lee AJ, Nam SK, Bae SJ, Lee SB, Shin SJ, Park SH, Ahn JB, Jung I, Lee KY, Park SH, Kim H, Min BS, Shin EC, 2019. VEGF-A drives TOX-dependent T cell exhaustion in anti-PD-1-resistant microsatellite stable colorectal cancers. *Sci Immunol*, 4, 41.
- Kim R, Emi M, Tanabe K, 2007. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology*, 121, 1, 1-14.
- Knudsen AB, Rutter CM, Peterse EFP, Lietz AP, Seguin CL, Meester RGS, Perdue LA, Lin JS, Siegel RL, Doria-Rose VP, Feuer EJ, Zauber AG, Kuntz KM, Lansdorp-Vogelaar I, 2021. Colorectal Cancer Screening: An Updated Modeling Study for the US Preventive Services Task Force. *Jama*, 325, 19, 1998-2011.
- Leeming ER, Johnson AJ, Spector TD, Le Roy CI, 2019. Effect of Diet on the Gut Microbiota: Rethinking Intervention Duration. *Nutrients*, 11, 12, 2862.
- Levine AJ, 1997. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*, 88, 3, 323-31.
- Liu Y, Bodmer WF, 2006. Analysis of P53 mutations and their expression in 56 colorectal cancer cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 4, 976-81.

- Lynch HT, de la Chapelle A, 2003. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med*, 348, 10, 919-32.
- Ma CS, Tangye SG, Deenick EK, 2010. Human Th9 cells: inflammatory cytokines modulate IL-9 production through the induction of IL-21. *Immunol Cell Biol*, 88, 6, 621-3.
- Mangas-Sanjuan C, Jover R, 2022. Familial colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 58-59, 101798.
- Manzoni M, Rovati B, Ronzoni M, Loupakis F, Mariucci S, Ricci V, Gattoni E, Salvatore L, Tinelli C, Villa E, Danova M, 2010. Immunological effects of bevacizumab-based treatment in metastatic colorectal cancer. *Oncology*, 79, 3-4, 187-96.
- Markowitz SD, Bertagnolli MM, 2009. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med*, 361, 25, 2449-60.
- Martin-Orozco N, Muranski P, Chung Y, Yang XO, Yamazaki T, Lu S, Hwu P, Restifo NP, Overwijk WW, Dong C, 2009. T helper 17 cells promote cytotoxic T cell activation in tumor immunity. *Immunity*, 31, 5, 787-98.
- Miranda Furtado CL, Dos Santos Luciano MC, Silva Santos RD, Furtado GP, Moraes MO, Pessoa C, 2019. Epidrugs: targeting epigenetic marks in cancer treatment. *Epigenetics*, 14, 12, 1164-76.
- Nelson RL, Dollear T, Freels S, Persky V, 1997. The relation of age, race, and gender to the subsite location of colorectal carcinoma. *Cancer*, 80, 2, 193-7.
- Nowell PC, 1976. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*, 194, 4260, 23-8.
- O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY, 2004. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst*, 96, 19, 1420-5.
- Okugawa Y, Grady WM, Goel A, 2015. Epigenetic Alterations in Colorectal Cancer: Emerging Biomarkers. *Gastroenterology*, 149, 5, 1204-25.e12.
- Paulissen SM, van Hamburg JP, Davelaar N, Vroman H, Hazes JM, de Jong PH, Lubberts E, 2015. CCR6(+) Th cell populations distinguish ACPA positive from ACPA negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 17, 344.
- Peng D, Kryczek I, Nagarsheth N, Zhao L, Wei S, Wang W, Sun Y, Zhao E, Vatan L, Szeliga W, Kotarski J, Tarkowski R, Dou Y, Cho K, Hensley-Alford S, Munkarah A, Liu R, Zou W, 2015. Epigenetic silencing of TH1-type

- chemokines shapes tumour immunity and immunotherapy. *Nature*, 527, 7577, 249-53.
- Phipps AI, Buchanan DD, Makar KW, Win AK, Baron JA, Lindor NM, Potter JD, Newcomb PA, 2013. KRAS-mutation status in relation to colorectal cancer survival: the joint impact of correlated tumour markers. *Br J Cancer*, 108, 8, 1757-64.
- Pino MS, Chung DC, 2010. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*, 138, 6, 2059-72.
- Powell SM, Zilz N, Beazer-Barclay Y, Bryan TM, Hamilton SR, Thibodeau SN, Vogelstein B, Kinzler KW, 1992. APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis. *Nature*, 359, 6392, 235-7.
- Rakhra K, Bachireddy P, Zabuawala T, Zeiser R, Xu L, Kopelman A, Fan AC, Yang Q, Braunstein L, Crosby E, Ryeom S, Felsher DW, 2010. CD4(+) T cells contribute to the remodeling of the microenvironment required for sustained tumor regression upon oncogene inactivation. *Cancer Cell*, 18, 5, 485-98.
- Rentschler M, Braumüller H, Briquez PS, Wieder T, 2022. Cytokine-induced senescence in the tumor microenvironment and its effects on anti-tumor immune responses. *Cancers*, 14, 6, 1364.
- Riley JL, 2009. PD-1 signaling in primary T cells. *Immunol Rev*, 229, 1, 114-25.
- Schmit SL, Rennert HS, Rennert G, Gruber SB, 2016. Coffee Consumption and the Risk of Colorectal Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 25, 4, 634-9.
- Schubbert S, Shannon K, Bollag G, 2007. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer*, 7, 4, 295-308.
- Schürch CM, Bhate SS, Barlow GL, Phillips DJ, Noti L, Zlobec I, Chu P, Black S, Demeter J, McIlwain DR, Kinoshita S, Samusik N, Goltsev Y, Nolan GP, 2020. Coordinated Cellular Neighborhoods Orchestrate Antitumoral Immunity at the Colorectal Cancer Invasive Front. *Cell*, 182, 5, 1341-59.e19.
- Shevach EM, Thornton AM, 2014. tTregs, pTregs, and iTregs: similarities and differences. *Immunol Rev*, 259, 1, 88-102.
- Shibuya M, 2011. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor (VEGFR) signaling in angiogenesis: a crucial target for anti-and pro-angiogenic therapies. *Genes & cancer*, 2, 12, 1097-105.
- Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RGS, Barzi A, Jemal A, 2017. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*, 67, 3, 177-93.

- Song M, Graubard BI, Rabkin CS, Engels EA, 2021. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and mortality in the United States general population. *Sci Rep*, 11, 1, 464.
- Spano JP, Fagard R, Soria JC, Rixe O, Khayat D, Milano G, 2005. Epidermal growth factor receptor signaling in colorectal cancer: preclinical data and therapeutic perspectives. *Ann Oncol*, 16, 2, 189-94.
- Spranger S, Gajewski TF, 2018. Impact of oncogenic pathways on evasion of antitumour immune responses. *Nat Rev Cancer*, 18, 3, 139-47.
- Stanczak A, Stec R, Bodnar L, Olszewski W, Cichowicz M, Kozłowski W, Szczylik C, Pietrucha T, Wiczorek M, Lamparska-Przybysz M, 2011. Prognostic significance of Wnt-1, β -catenin and E-cadherin expression in advanced colorectal carcinoma. *Pathol Oncol Res*, 17, 4, 955-63.
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F, 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, 71, 3, 209-49.
- Takimoto T, Wakabayashi Y, Sekiya T, Inoue N, Morita R, Ichiyama K, Takahashi R, Asakawa M, Muto G, Mori T, Hasegawa E, Saika S, Hara T, Nomura M, Yoshimura A, 2010. Smad2 and Smad3 are redundantly essential for the TGF-beta-mediated regulation of regulatory T plasticity and Th1 development. *J Immunol*, 185, 2, 842-55.
- Teker AG, Ay P, 2022. Has the cancer-related death trend been changing in Turkey? An evaluation of the period between 2009 and 2019. *Cancer Epidemiol*, 80, 102228.
- Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP, 1999. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, 15, 8681-6.
- Turati F, Concina F, Rossi M, Fiori F, Parpinel M, Taborelli M, Giacosa A, Crispo A, Pagan E, Rosato V, Negri E, La Vecchia C, 2022. Association of prebiotic fiber intake with colorectal cancer risk: the PrebiotiCa study. *Eur J Nutr*.
- Turner CN, Mullins GN, Hoyer KK, 2022. CXCR5(+)CD8 T cells: Potential immunotherapy targets or drivers of immune-mediated adverse events? *Front Med (Lausanne)*, 9, 1034764.
- Vieira AR, Abar L, Chan DSM, Vingeliene S, Polemiti E, Stevens C, Greenwood D, Norat T, 2017. Foods and beverages and colorectal cancer risk: a systematic

- review and meta-analysis of cohort studies, an update of the evidence of the WCRF-AICR Continuous Update Project. *Ann Oncol*, 28, 8, 1788-802.
- Vinuesa CG, Linterman MA, Yu D, MacLennan IC, 2016. Follicular Helper T Cells. *Annu Rev Immunol*, 34, 335-68.
- Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE, 1990. Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med*, 323, 24, 1664-72.
- Wong MCS, Huang J, Huang JLW, Pang TWY, Choi P, Wang J, Chiang JI, Jiang JY, 2020. Global Prevalence of Colorectal Neoplasia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 18, 3, 553-61.e10.
- Wong SH, Yu J, 2019. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16, 11, 690-704.
- Wu TD, Madireddi S, de Almeida PE, Banchereau R, Chen YJ, Chitre AS, Chiang EY, Iftikhar H, O'Gorman WE, Au-Yeung A, Takahashi C, Goldstein LD, Poon C, Keerthivasan S, de Almeida Nagata DE, Du X, Lee HM, Banta KL, Mariathasan S, Das Thakur M, Huseni MA, Ballinger M, Estay I, Caplazi P, Modrusan Z, Delamarre L, Mellman I, Bourgon R, Grogan JL, 2020. Peripheral T cell expansion predicts tumour infiltration and clinical response. *Nature*, 579, 7798, 274-8.
- Yang J, Yan J, Liu B, 2018. Targeting VEGF/VEGFR to Modulate Antitumor Immunity. *Front Immunol*, 9, 978.
- You FP, Zhang J, Cui T, Zhu R, Lv CQ, Tang HT, Sun DW, 2017. Th9 cells promote antitumor immunity via IL-9 and IL-21 and demonstrate atypical cytokine expression in breast cancer. *Int Immunopharmacol*, 52, 163-7.
- Yu D, Rao S, Tsai LM, Lee SK, He Y, Sutcliffe EL, Srivastava M, Linterman M, Zheng L, Simpson N, Ellyard JI, Parish IA, Ma CS, Li QJ, Parish CR, Mackay CR, Vinuesa CG, 2009. The transcriptional repressor Bcl-6 directs T follicular helper cell lineage commitment. *Immunity*, 31, 3, 457-68.
- Zauber P, Sabbath-Solitare M, Marotta SP, Bishop T, 2008. Loss of heterozygosity for chromosome 18q and microsatellite instability are highly consistent across the region of the DCC and SMAD4 genes in colorectal carcinomas and adenomas. *Journal of Applied Research*, 8, 14+.

- Zeboudj L, Maître M, Guyonnet L, Laurans L, Joffre J, Lemarie J, Bourcier S, Nour-Eldine W, Guérin C, Friard J, Wakkach A, Fabre E, Tedgui A, Mallat Z, Tharaux P-L, Ait-Oufella H, 2018. Selective EGF-Receptor Inhibition in CD4+ T Cells Induces Anergy and Limits Atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 71, 2, 160-72.
- Zeng H, Safratowich BD, Cheng WH, Bukowski MR, 2022. Identification of oncogenic signatures in the inflammatory colon of C57BL/6 mice fed a high fat diet. *J Nutr Biochem*, 109188.
- Zhang Q, Davis JC, Lamborn IT, Freeman AF, Jing H, Favreau AJ, Matthews HF, Davis J, Turner ML, Uzel G, Holland SM, Su HC, 2009. Combined immunodeficiency associated with DOCK8 mutations. *N Engl J Med*, 361, 21, 2046-55.
- Zhu J, 2018. Seventeen-Year Journey Working With a Master. *Front Immunol*, 9, 960.
- Zhu J, Yamane H, Paul WE, 2010. Differentiation of effector CD4 T cell populations (*). *Annu Rev Immunol*, 28, 445-89.
- Zhu X, Zhu J, 2020. CD4 T Helper Cell Subsets and Related Human Immunological Disorders. *Int J Mol Sci*, 21, 21.



EK-A: Tezden Üretilmiş Yayınlar

Enter words / phrases / DOI / ISBN / authors / keywords / etc.

Newest Content Issues Special Content Authors Subscribers About ASCO Publications Careers

[Journal of Clinical Oncology](#) > [List of Issues](#) > [Volume 39, Issue 15, suppl.](#) >

Meeting Abstract | 2021 ASCO Annual Meeting I

GASTROINTESTINAL CANCER—COLORECTAL AND ANAL

VEGFR2 expressions in Th1 and CD8+ cytotoxic T lymphocytes (CTL) in colon cancer patients.

 Check for updates

[Mehmet Artac](#), [Ayca Ceylan](#), [Melek Karakurt Eryilmaz](#), [Murat Araz](#), [Mustafa Karaogac](#), [Hasibe Artac](#), [Melike Emiroglu](#)

Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty Medical Oncology Department, Konya, Turkey; Selcuk University Medical Faculty Pediatric Allergy and Immunology Department, Konya, Turkey; Necmettin Erbakan University, Meram Faculty of Medicine, Department of Medical Oncology, Konya, Turkey; Selcuk University Medical Faculty Department of Pediatric Infectious Diseases, Konya, Turkey

[Show Less](#)

[Abstract Disclosures](#) 

Abstract




e15535



Background: VEGF receptors have an important role for inhibiting adaptive immun response in colon cancer. Therefore, we analyzed VEGF receptors in circulating T cell subsets according to stage in colon cancer patients. **Methods:** The prospective study group consisted of 50 patients with histologically confirmed colon cancer and 30 person without any cancer history as a control group. Peripheral blood specimens were collected from the patients after the diagnosis before inducing chemotherapy and radiotherapy. Patients with active infections or autoimmune disorders, who were treated with steroids and antibiotics in the last four weeks before the study enrollment were excluded from the study group. VEGFR2 expressions in circulating T cell subsets (Th1, Th2, Th17, CTL) were analyzed by flow cytometry. **Results:** Age and gender were not different between the all study groups. Mean circulating CD4+ follicular cells were less in colon cancer patients (9.54%±3.99) than the control group (12.03%±4.34), (p < 0.01). Mean circulating CD8+ follicular cells were higher in metastatic colon cancer (n = 26) 2.48% ± 1.68, than the non-metastatic colon cancer patients (n = 24) 1.63% ± 1.37, (p = 0.02). Mean VEGFR2 expressions in Th1 cells were higher in colon cancer patients 248.8 (Mean Fluorescein intensity-MFI) than the control group 224.6, (P = 0.006). Mean VEGFR2 expressions in CTL were higher in colon cancer patients (381.8) than the control group (284.7), (p < 0.001). PD-1 expressions were not different between the colon cancer patients and the control group in all circulating T cell subsets. Mean VEGFR2 expressions in Th17 cells were higher non-metastatic colon cancer patients than the metastatic colon cancer patients (326.5 and 268.4 MFI, respectively, p = 0.02). **Conclusions:** VEGFR2 expressions are increased in circulating Th1 and CTL subsets in colon cancer patients. Whereas PD-1 expressions were not different in circulating T cell subsets than the control. VEGFRs may play an important role for the inhibition of circulating T cell subsets in colon cancer.

© 2021 by American Society of Clinical Oncology

Research Sponsor:

OPTIONS & TOOLS

-  [Export Citation](#)
-  [Track Citation](#)
-  [Add To Favorites](#)
-  [Rights & Permissions](#)

COMPANION ARTICLES

No companion articles

ARTICLE CITATION

DOI: 10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.e15535
Journal of Clinical Oncology 39, no. 15, suppl
Published online May 28, 2021.

EK-B: Turnitin Raporu

KOLON KANSERLİ HASTALARDA T LENFOSİT ALT GRUPLARINDA VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖRÜ İLE EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖR EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 10	% 9	% 3	% 5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 2
2	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	% 1
3	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	% 1
5	openaccess.ogu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
6	acikerisim.selcuk.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
7	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	acikerisim.uludag.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

