

Kronik Kolesistit Hastalarında Safra Kesesi IGF-1 Ekspresyonu Ve Kan CRP Düzeyi İlişkisi

The Relation Among Blood CRP Level And Gallbladder IGF-1 Expression In Patients With Chronic Cholecystitis

Ali Aslan¹, Hawva Erdem², Yasemin Kaya³, Soner Çankaya⁴

¹ Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, Ordu, Türkiye

² Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD, Ordu, Türkiye

³ Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Ordu, Türkiye

⁴ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yaşar Doğu Spor Bilimleri Fakültesi, Spor Yöneticiliği Bölümü, Samsun, Türkiye

Yazışma Adresi / Correspondence:

Ali Aslan

Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, Ordu, Türkiye

T: +90 452 226 52 14 E-mail: draslan@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 13.09.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 28.11.2018

Öz

- Amaç** Bu çalışmada, çeşitli biyokimyasal parametreler ve safra kesesi insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ekspresyonu arasındaki ilişki biyokimyasal ve patolojik yöntemlerle incelenmiştir. (**Sakarya Tıp Dergisi 2018, 8(3):782-787**)
- Gereç ve Yöntemler** 1 Ocak 2017- 31 Ocak 2018 tarihleri arasında Ordu Eğitim Araştırma Hastanesi'nde kronik kolesistit tanısı alan hastalara ait tıbbi kayıtlar retrospektif olarak incelendi. Hastaların çeşitli biyokimyasal parametreleri çalışıldı. Kronik kolesistit nedeniyle opere edilen hastalardan elde edilen kolesistektomi materyalinde immünohistokimyasal yöntemle IGF-1 antikoruna uygulandı.
- Bulgular** Patolojik incelemede IGF-1 ekspresyonunun izlendiği gruptaki en belirgin biyokimyasal değer C-reaktif protein (CRP) yüksekliği olarak saptandı.
- Sonuç** Safra kesesi IGF-1 ekspresyonu ve inflamasyon ilişkisini düşündüren bu bulguların farklı yöntemlerle doğrulanması kronik kolesistit gelişimi ve kolesistit-kanser ilişkisi üzerine yeni ufuklar açabilir.
- Anahtar Kelimeler** Kolesistit; Obezite; İnsülin-benzeri büyüme faktörü-1; İmmünohistokimya; C-reaktif protein

Abstract

- Objective** In the present study, the relation between certain biochemical parameters and gallbladder insulin-like growth factor I (IGF-1) expression was investigated with pathological and biochemical methods. (**Sakarya Med J 2018, 8(3):782-787**).
- Materials and Methods** The records of patients who administrated to Ordu Education and Research Hospital between 1 January 2017-31 January 2018 with the diagnosis of chronic cholecystitis were examined retrospectively. Certain biochemical parameters of the patients were studied. In addition IGF-1 antibody was applied to cholecystectomy specimens with immunohistochemical method.
- Results** In pathological evaluation, the group exhibiting positive IGF-1 staining showed high C-reactive protein (CRP) values.
- Conclusion** Future confirmation of these findings of IGF-1 expression and inflammation connection could lead new directions through cholecystitis development and cholecystitis-cancer link.
- Keywords** Cholecystitis; Obesity; Insulin-like growth factor I; Immunohistochemistry; C-reactive protein

Giriş

Kronik kolesistit, safra kesesi duvarlarının kronik inflamasyonu ile karakterizedir. Patolojik olarak, safra kesesinde, minimal mukozal skarlaşmadan şiddetli transmüral fibroz ve kalsifikasyona kadar değişen bir görünüme rastlanabilir. Safra kesesinin en yaygın patolojilerden biridir. Olguların %90'ında klinik durumdan safra taşları sorumludur.¹⁻³ Taşla beraber enfeksiyon da etyolojiye katkıda bulunur. Günümüzün en önemli ve yaygın sağlık sorunlarının başında gelen obezite taş oluşumunu ve dolayısıyla kronik kolesistit gelişimini tetikler. Kronik kolesistit safra kesesi kanseri için de bir risk faktörüdür. Safra kesesi kanseri oldukça nadir görülen bir kanser türü olsa da fark edildiğinde büyük oranda tedavi edilemez aşamadır ve sağ kalım oranları çok düşüktür.

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) meme, akciğer ve prostat kanserleri için önemli bir prognostik faktör ve işaretleyicidir. Safra kesesi kanseri gelişiminde rol aldığı da bildirilmiştir.^{4,5}

Kronik kolesistit, kanserden çok daha yaygın ve tedavi edilebilir olduğundan kolesistit vakalarındaki tanı, tedavi ve izlem ile ilgili her türden veri ya da değer büyük önem arz etmektedir.

Bu nedenle bu araştırmada çeşitli biyokimyasal parametreler ve safra kesesi IGF-1 ekspresyonu arasındaki ilişkinin biyokimyasal ve patolojik yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Çalışmamız, 1 Ocak 2017- 31 Ocak 2018 tarihleri arasında Ordu Eğitim Araştırma Hastanesi'nde kronik kolesistit tanısı alan 69 adet hastaya ait tıbbi kayıtlarla ilgili retrospektif olarak dosya taramasının yapıldığı kesitsel tipte tanımlayıcı bir araştırmadır. Hastaların çeşitli demografik verileri kaydedilerek biyokimyasal parametreleri (Tablo 1'de verilmiştir) çalışıldı. Ayrıca kronik kolesistit nedeniyle opere edilen hastalardan elde edilen kolesistektomi materyaline immünohistokimyasal yöntemle IGF-1 antikoruna uygulandı.

İmmünohistokimyasal analiz için formalinle fikse edilmiş safra kesesi duvarına ait örnekler parafine gömülerek bloklandı. Bu parafin bloklardan hazırlanan 4-5 µm kalınlığındaki kesitlere, immunohistokimyasal olarak "Strepto-avidin-Biotin Kompleks" tekniği ile IGF-1 antikoruna uygulandı. Kromojen olarak diaminobenzidin (DAB) ve zıt boyama için hematoksilin kullanıldı. Rutin doku takibi işlemlerinden sonra hazırlanan preparatlar BX-051 Olympus (JAPAN) marka araştırma mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

Araştırmada incelenen biyokimyasal parametrelere ait verilerin IGF-1 immün boyanma durumuna (var-yok) göre farklılık gösterip göstermediği Student t-testi ile belirlendi. Araştırma bulguları n, ortalama ve standart sapma olarak verildi ve bulgular P<0,05 önem seviyesinde anlamlı kabul edildi. Tüm istatistiksel hesaplamalar SPSS 21.0 V. istatistik paket programda yapıldı.

Çalışma protokolü 2018/168 onay numarası ile Ordu Üniversitesi Etik Kurulu tarafından gözden geçirilmiş ve onaylanmıştır.

Bulgular

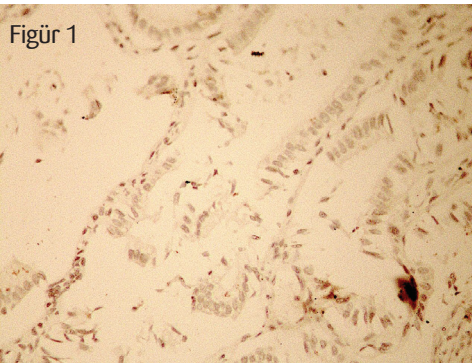
İncelenen biyokimyasal parametrelerin tamamı normal sınırlardaydı. Tablo 1'de biyokimyasal parametrelerle IGF-1 immün boyanma ilişkisi verilmiştir. Boyanma olmayan ve boyanma olan safra

kesesi duvar kesitleri sırasıyla Figür 1, 2 ve Figür 3, 4'te verilmiştir. Patolojik incelemede IGF-1 ekspresyonu izlenen grupta tutulumun epitel hücrelerinde apikal bölgede ve granüler tarzda olduğu izlendi.

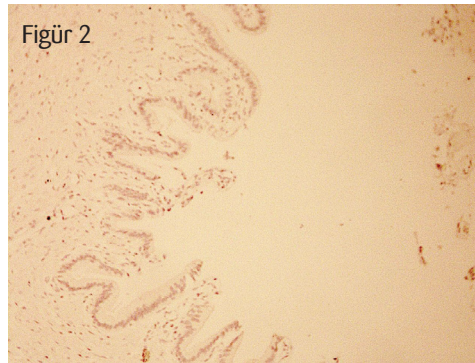
Tablo 1. Hastalara ait çeşitli parametre değerlerinin IGF-1 immün boyanma durumlarına göre dağılımı

Parametreler	Boyanma Yok	Boyanma Var	P-değerleri
	$X \pm S_x$	$X \pm S_x$	
Yaş	47,27 ± 2,096	51,14 ± 2,702	0,256
Boy	1,631 ± 0,014	1,626 ± 0,013	0,811
Kilo	76,20 ± 2,231	73,43 ± 2,098	0,392
Vücut kitle indeksi	28,55 ± 0,751	27,82 ± 0,854	0,529
Hemoglobin	13,23 ± 0,258	12,36 ± 0,371	0,052
Beyaz küre	7,868 ± 0,401	7,612 ± 0,513	0,693
Platelet	270,2 ± 12,21	278,2 ± 17,91	0,704
Nötrofil	60,69 ± 1,666	59,95 ± 1,854	0,773
Lenfosit	29,85 ± 1,494	31,42 ± 1,666	0,492
Monosit	6,457 ± 0,296	6,373 ± 0,540	0,883
MPV	8,771 ± 0,236	8,850 ± 0,305	0,831
RDW	15,71 ± 0,474	16,94 ± 1,024	0,232
Kan şekeri	108,1 ± 3,971	109,7 ± 4,959	0,798
BUN	13,25 ± 1,135	14,40 ± 1,810	0,572
Kreatinin	0,748 ± 0,022	0,734 ± 0,022	0,653
AST	25,17 ± 1,950	22,04 ± 2,104	0,289
ALT	28,26 ± 2,550	23,22 ± 2,341	0,172
GGT	25,02 ± 2,365	25,66 ± 2,749	0,860
ALP	74,83 ± 4,668	77,11 ± 4,438	0,736
Total bilirubin	0,800 ± 0,127	0,615 ± 0,058	0,257
Direkt bilirubin	0,347 ± 0,087	0,271 ± 0,032	0,492
İndirekt bilirubin	0,471 ± 0,051	0,346 ± 0,028	0,062
CRP	1,627 ± 0,378	3,974 ± 0,877	0,019

MPV: Mean Platelet Volume; RDW: Red Cell Distribution Width; AST: Aspartat Aminotransferaz; ALT: Alanin Aminotransferaz; GGT: Gama Glutamil Transferaz; ALP: Alkalen Fosfataz



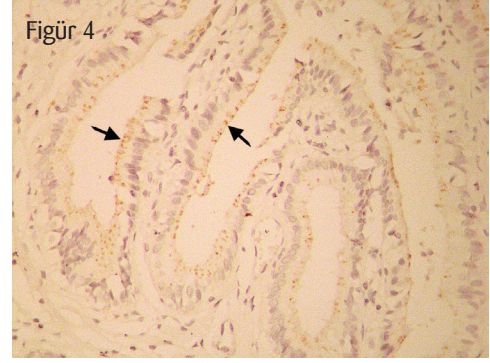
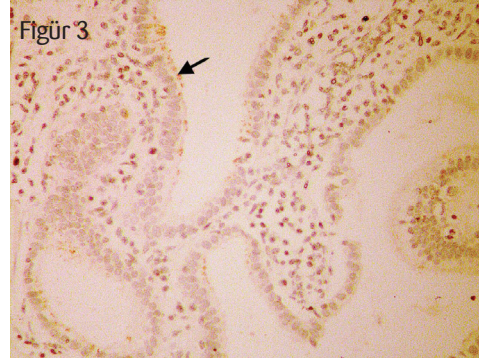
Figür 1



Figür 2

Figür 1: IGF tutulumu göstermeyen safra kesesi epitelini (IGF-1X400)

Figür 2: Minimal IGF tutulumu gösteren safra kesesi epitelini (IGF-1X200)



Figür 3: Belirgin IGF tutulumu gösteren safra kesesi epiteli, ok (IGF-1X400)

Figür 4: Belirgin IGF tutulumu gösteren safra kesesi epiteli, ok (IGF-1X400)

Patolojik değerlendirme sonucunda IGF-1 boyanmasının izlendiği gruptaki en belirgin biyokimyasal değer CRP yüksekliği olarak saptandı. Diğer biyokimyasal veriler açısından IGF-1 antikoruna ile boyanıp boyanmama durumuna göre herhangi bir anormal değere rastlanmadı.

Tartışma

Bu çalışmada ilk defa biyokimyasal parametreler ve safra kesesi IGF-1 immünohistokimyası bir arada değerlendirilmiştir. Akut kolesistit hastalarında lökosit ve CRP değerlerinin yükseldiğine dair çalışmalar olsa da kronik kolesistit hastalarında biyokimyasal parametreler ve safra kesesi IGF-1 ekspresyonu ilişkisi üzerine çalışma bulunmamaktadır.

Safra kesesi kanseri safra yolunun en sık kanseridir. Nonspesifik semptomlarla seyrettiğinden genellikle geç farkedilir ve prognozu kötüdür.⁶

IGF sistemi normal büyüme ve gelişmede önemli roller oynar ve son zamanlarda tümör gelişimi ve progresyonunda da etkili oldukları gösterilmiştir. IGF sistem üyeleri IGF ligandları (IGF-I ve IGF-II); hücre yüzey reseptörleri (IGF-I reseptörü (IGF-IR) ve IGF-II reseptörü (IGF-IIR)); ve altı farklı bağlantı proteinden oluşur.⁷⁻⁹

IGF sisteminin safra kesesi kanserinde de rol aldığı ve bu sistem elemanlarının tedavide etkin bir hedef olabileceği gösterilmiştir.⁸⁻¹⁰ Suzuki ve ark. nın çalışmasında safra yolu kanserlerinde artmış IGF-1 reseptörü, mTOR ve raf-1 ekspresyonu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, IGF-1 reseptörünü hedef alan tedavilerin safra yolu kanserinde yarar sağlayabileceği ve IGF-1 reseptörünün işaretleyici olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür.

Sokolovic ve ark. nın yaptığı çalışmada, kronik kolanjiyopati modelinde IGF-1'in biliyer fibrozis üzerine etkilerine bakılmıştır. IGF-1 aşırı ekspresyonunun fibrozisi ve inflamasyonu arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca kolanjiyosit ve safra kanalı proliferasyonunu tetiklediği de gösterilmiştir.¹¹ Biz de kronik kolesistit spesmenlerinde IGF-1 ekspresyonu izlenenlerde CRP düzeylerini yüksek bulduk ki bu bulgumuz Sokolovic ve ark. nın bulgularıyla paralel olarak IGF-1-inflamasyon ilişkisini işaret etmektedir.

IGF-1 ekspresyonu obezlerde de artmaktadır ve bu durum obez bireylerde kanser oluşumunu tetikleyen bir risk faktörü oluşturmaktadır.^{12,13} Obezlerde safra taşı oluşum riski, safra içeriğinin değişmesi ve kesenin boşalmasının yavaşlaması nedeniyle fazladır. Taş ise kronik kolesistit için önemli bir etyolojik faktördür.

IGF ekspresyonu-obezite ve kanser ilişkisine yönelik çalışmalarda serum IGF düzeylerinin ölçümü yapılmıştır.¹⁴ Ancak biz kolesistektomi materyalinde histopatolojik inceleme ile IGF tutulumunu gösterdik. Bu yönüyle çalışmamız literatürden farklılık göstermektedir. Patolojik olarak, apikal granüler tarzda IGF-1 tutulumu izledik ki bu tutulum Kornprat ve ark.'nın safra kesesi tümörlerinde izlediği granüler IGF-1 ve IGF-2 tutulumuna benzerdi.¹⁰

CRP önemli bir akut faz proteinidir ve inflamatuvar yanıtta yüksek seyreder. Diğer pek çok inflamasyon markerinin aksine CRP çok daha uzun süre yüksek kalır, diurnal ritm sergilemez ve ucuz yöntemlerle yüksek duyarlılıkla ölçülebilir.¹⁵ Bizim çalışmamızda da IGF-1 boyanan gruptaki tek ve en belirgin patolojik değer CRP ye ait yüksek değerlerdi. Bir başka deyişle IGF-1 boyanan grupta CRP gibi önemli bir inflamatuvar reaktanın yüksekliği IGF-1 ve CRP arasında bir korelasyon olabileceğini gösterebilir.

Gürbulak ve ark., akut kolesistitte plazma CRP düzeylerine bakarak hastalığın seyri ve CRP düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığını çalışmışlardır.¹⁶ Sonuçta artan CRP düzeylerinin hastalık şiddeti ile korele olduğu görülmüştür. Her ne kadar kronik kolesistit hastalarında CRP düzeylerine bakmış olsak da Gürbulak ve ark.'nın çalışmasına paralel bir şekilde, kronik kolesistitte, IGF-1 ekspresyonu gösteren grupta CRP seviyelerini yüksek bulduk.

Yine Başer ve ark.'nın çalışmasında normal kilolu olguların yüksek duyarlı-CRP düzeyleri obez olgulardan anlamlı düzeyde düşük olarak saptanmıştır. Yüksek duyarlı-CRP düzeyi kilo artışıyla birlikte artış göstermiştir.¹⁷

Çalışmamızdaki kolesistektomi spesmenlerinde IGF-1 boyanan grubun CRP değerlerinin yüksek oluşu inflamasyon-kanser ilişkisini destekler mahiyettedir. Bu durum kronik kolesistitli vakaların kanser açısından da dikkatle takip edilmesi gereğini düşündürmektedir. Ancak bu ilişkinin daha kapsamlı teknik ve analizlerle araştırılması gerekmektedir.

1. Ateş B, Ünal İ. Kolesistit, safra taşları, risk faktörleri ve beslenme ile ilişkisi. *Güncel Gastroenteroloji* 2016;20:317-321.
2. Shaffer EA. Epidemiology and risk factors for gallstone disease: has the paradigm changed in the 21st century? *Curr Gastroenterol Rep.* 2005;7:132-140.
3. Stinton LM, Shaffer EA. Epidemiology of gallbladder disease: cholelithiasis and cancer. *Gut Liver* 2012;6:172-87.
4. Ohashi H, Adachi Y, Yamamoto H, Taniguchi H, Noshio K, Suzuki H et al. Insulin-like growth factor receptor expression is associated with aggressive phenotypes and has therapeutic activity in biliary tract cancers. *Cancer Sci.* 2012;103:252-261.
5. Suzuki H, Roa JC, Kawamoto T, Ishige K, Wistuba II, Li D et al. Expression of insulin-like growth factor I receptor as a biomarker for predicting prognosis in biliary tract cancer patients. *Molecular And Clinical Oncology* 2015;3:464-470.
6. Sandberg AA. Diagnosis and Management of Gallbladder Cancer. *N Am J Med Sci.* 2012 Jul; 4(7): 293-299.
7. Pollak MN, Schernhammer ES, Hankinso SE. Insulin-like growth factors and neoplasia. *Nat Rev Cancer* 2004;4:505-18.
8. Foulstone E, Prince S, Zaccaro O, et al. Insulin-like growth factor ligands, receptors and binding proteins in cancer. *J Pathol* 2005;205:145-53.
9. Mauro L, Surmacz E. IGF-I receptor, cell-cell adhesion, tumour development and progression. *J Mol Histol* 2004;35:247-53.
10. Kornprat P, Rehak P, Ruschoff J, Langner C. Expression of IGF-I, IGF-II, and IGF-IR in gallbladder carcinoma. A systematic analysis including primary and corresponding metastatic tumours. *J Clin Pathol* 2006;59:202-206.
11. Sokolovi A, Rodriguez-Ortigosa CM, Bloemendaal L, Elferink RPJO, Prieto J, Bosma PJ. Insulin-like growth factor 1 enhances bile-duct proliferation and fibrosis in *Abcb4*^{-/-} mice. *Biochimica et Biophysica Acta* 2013;1832:697-704.
12. Renehan AG, Frystyk J, Flyvbjerg A. Obesity and cancer risk: the role of the insulin-IGF axis. *Trends Endocrinol Metab.* 2006 Oct;17:328-36.
13. Cohen DH ve LeRoith D. Obesity, type 2 diabetes, and cancer: the insulin and IGF connection. *Endocrine-Related Cancer* 2012;19:F27-F45
14. Floros T, Philippou A, Bardakostas D, Mantas D, Koutsilieris M. The growth endocrine axis and inflammatory responses after laparoscopic cholecystectomy. *Hormones (Athens).* 2016;15:73-80.
15. Shrivastava AK, Singh HV, Raizada A, Singh SK. C-reactive protein, inflammation and coronary heart disease. *The Egyptian Heart Journal* 2015;67:89-97.
16. Gurbulak EK, Gurbulak B, Akgun IE, Duzkoylu Y, Battal M, Celayir MF et al. Prediction of the grade of acute cholecystitis by plasma level of C-reactive protein. *Iran Red Crescent Med J.*2015;17:e28091
17. Başer M, Maviş O, Özgür R, Özdemir AA, Özkeskin A, Küçükdemirci Ö et al. Diyabetik Obez Hastalarda Obezitenin Yüksek Duyarlılıklı C-Reaktif Protein (Hs-CRP) ile ilişkisi. *Haseki Tıp Bülteni* 2013; DOI: 10.4274/Haseki.1056