

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**GASTROİNTESTİNAL STROMAL TÜMÖRLERDE KI-67, WWOX VE
FHİT PROTEİN EKSPRESYONU VE PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

Dr. Hawva SOLAK ÖZŞEKER

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

ANKARA
2009

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**GASTROİNTESTİNAL STROMAL TÜMÖRLERDE KI-67, WWOX VE
FHİT PROTEİN EKSPRESYONU VE PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

Dr. Havva SOLAK ÖZŞEKER

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Gülçin ALTINOK

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

ANKARA
2009

TEŞEKKÜR

Yazar, bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı, aşağıda adı geçen kişi ve kuruluşlara içtenlikle teşekkür eder:

Sayın Prof.Dr.Cenk Sökmensüer hem değerli bilimsel katkılarda bulunmuş, hem yol gösterici olmuştur.

Sayın Doç.Dr. Gaye Güler Tezel değerli bilimsel katkılarda bulunmuştur.

Sayın Doç.Dr. Gülnur Güler'in değerli bilimsel katkıları olmuştur.

Sayın Doç.Dr. Gülçin Altınok, tez danışmanım olarak çalışmaya katkıda bulunmuştur.

Tez çalışmalarım süresince Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Arzu Sungur, tüm hocalarım ve asistan arkadaşlarım anlayışlarını ve desteklerini benden esirgememiştir.

Ailem her zaman olduğu gibi bu dönemde de sonsuz sevgi ve sabırla yanımda olmuştur.

Sayın Doç. Dr. Mutlu Hayran istatistiksel analize yardımcı olmuştur.

Sayın Biyolog Özlem Bektaş ile Melike Denişik ve Lokman Kale'nin teknik alandaki özverili ve titiz çalışmaları sayesinde bu çalışma gerçekleşebilmiştir.

Sevgili eşim Dr. Burak Özşeker sevgisi, teknik ve bilimsel desteği ve sabrı ile her an yanımda olduğunu hissettirmiştir.

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir

(HÜBAB 09D09101001 6 Ekim 2009) (Etik kurul onay kodu FON09/43-25 karar numarası)

ÖZET

Solak Özşeker, H. Gastrointestinal stromal tümörlerde Ki-67, WWOX ve fhit protein ekspresyonu ve prognozla ilişkisi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Tezi, Ankara, 2009. Gastrointestinal Stromal Tümörler (GİST) insanda görülen en sık gastrointestinal mezankimal tümör olarak kabul edilmektedir. 1994 yılında Van de Rijn ve ark. ile Monihan ve ark. Gastrointestinal (GI) mezankimal tümörlerin büyük bir kısmında CD34 ekspresyonunu göstermişlerdir. 1995 yılında Miettinen ve ark. tipik leiomyom veya schwannoma özellikleri taşımayan GI mezankimal tümörlerde yüksek oranda CD34 pozitifliği saptamışlardır. 1998 yılında Selichi Hirota ve ark. c-kit tarafından kodlanan bir reseptör tirozin kinazı (TK) olan KIT'in, GI mezankimal tümörlerin bir bölümünde pozitif olduğunu göstermiş ve bu grup tümörler de GİST olarak adlandırılmıştır. İmmünohistokimyasal profilleri literatürdeki çalışmalarla ortaya konmaya çalışılan GİST'lerin prognostik parametreleri de literatürde halen tartışılmaya devam etmektedir. Tümör nekrozu, mitotik aktivite, tümör çapı, proliferasyon indeksi gibi ölçütler kötü prognostik parametreler olarak kabul edilmiştir. Ancak malignite potansiyeli açısından riskli hastaları daha iyi belirleyecek kriterlere ulaşmak için çalışmalar sürdürülmeye devam etmektedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, sindirim kanalını da içeren tümörlerde fragil bölge ilişkili genlerin önemli rolü olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızdaki amaçlardan biri GİST'lerin malignite potansiyelini daha iyi ortaya koyacak bir skorlama sistemini oluşturmaya çalışmak olup diğer amacımız immünohistokimyasal olarak Fhit ve wwox olarak adlandırılan fragil bölge ilişkili genlerin GİST patogenezine olan etkisini araştırmaktır: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 102 olgu çalışma kapsamına alınmıştır. Bu olgulardan en az 6 ay takibi bulunan 60 olguya morfolojik prognostik parametreler ile skorlama yapılmıştır. Olguların aldığı toplam skor ile metastaz/rekürrens arasındaki ilişki araştırılmıştır. Ayrıca bu olguların fhit ve wwox protein ekspresyonu da değerlendirilmiştir. Morfolojik skorlamada 7 ve üzerinde toplam skoru olan olguların metastaz ile ilişkisi olduğu bulunmuştur ($p < 0.01$). Olguların skorları 6 ve altında ve 7 ve üzerinde olmak üzere gruplandırıldığı takdirde metastaz ya da rekürrens tayininde sensitivitesi %70, spesifitesi %84 olarak bulunmuştur. 102 olgunun %27,5'inde fhit protein, %22'sinde Wwox ekspresyon kaybı değişen derecede göstermiştir. Fakat bu kayıp olumsuz prognostik parametre olarak anlamlı bulunmamıştır. Ki-67 işaretlenme indeksi anlamlı prognostik parametre olarak bulunmuştur. Morfolojik değerlendirmeyi esas alarak yaptığımız skorlama sistemi ile risk değerlendirmesinin somut avantajı çok sayıda hastanın taşıdıkları risk açısından birbiri ile kıyaslanmasını kolaylaştırmaktır. *Anahtar Sözcükler:* GİST, Wwox, FHİT, prognoz. Destekleyen kurum: HÜBAB (09D09101001)

ABSTRACT

Solak Özşeker, H Expression of Ki-67, WWOX ve fhit protein and its correlation with prognosis in Gastrointestinal Stromal Tumors. Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Ankara, 2009. Gastrointestinal stromal tumors (GIST) are considered to be the most common gastrointestinal (GI) mesenchymal tumor in humans. In 1994, Van de Rijn *et al.* and Monihan *et al.* reported that expression of CD34 was observed in a large proportion of GI mesenchymal tumors. In 1995, moreover, Miettinen *et al.* also reported high positivity of CD34 (49/67, 73%) In 1998 Selichi Hirota *et al.* found that KIT, a receptor tyrosine kinase (TK) encoded by protooncogene *c-kit*, was expressed by a particular group of GI mesenchymal tumors, that is, GIST. Prognostic profiles of GIST's are still being discussed as their immunohistochemical profiles in the literature. The measures like tumor necrosis, mitotic activity, tumor diameter, proliferation index are poor prognostic factors. But, to identify new criterias for the malignancy potential of high risk patients, studies are going on by some authors. In this study, our aim is to identify the role of the fragil site genes, Fhit and Wwox, in the pathogenesis of GIST, immunohistochemically. Also we aimed to design a scoring system to determine better the malignancy potential of GIST. Recent studies indicate that these fragile-site-related genes play an important role in the process of malignant transformation in human malignancies, including digestive tract cancers. In our department, 102 patients with GIST were analyzed for this study. Scoring ,based on the morphological prognostic factors, was performed in 60 patients who had at least 6 months of follow up period. The relation between the scores and metastasis and/or recurrences were analyzed. Also Fhit and Wwox expression of the tumoral cells were analyzed. The patients with a score of seven and above were found to have higher rates of metastasis, statistically. 27.5% of 102 patients had Fhit protein expression loss and 22% had Wwox expression loss. But this was not found to be statistically significant. Ki-67 proliferation index was found to be a statistically significant prognostic factor in this study. The advantage of the scoring system we recommended, based on mophologic prognostic factors, is the possibility to compare different patients and predict the prognosis. *Key Words GIST, Wwox, FHIT, prognosis.*

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar	vii
RESİMLER	viii
ŞEKİLLER	ix
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER VE KLİNİK ÖZELLİKLER	2
GİST PATOGENEZİ	4
GİST'TE SİTOGENETİK	4
PATOLOJİK ÖZELLİKLER	5
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLER	7
ONKOJENİK KİT MUTASYONU	9
ONKOJENİK PDGFRA MUTASYONU	9
AYIRICI TANI	9
TEDAVİ	10
PROGNOZ	10
FHİT ve WWOX	11
GEREÇ ve YÖNTEM	13
ÇALIŞMA GRUBUNUN TANIMLANMASI	13
HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME	13
İMMÜNHİSTOKİMYA	14
HİSTOLOJİK SKORLAMA	16
İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	19
BULGULAR	20
KLİNİK, HİSTOMORFOLOJİK VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR	20
TARTIŞMA	30
SONUÇLAR	39
KAYNAKLAR	41

TABLolar

TABLO 1 İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ÇALIŞMADA KULLANILAN ANTİKORLAR .	15
TABLO 2 İNVAZİV MEME KARSİNOM DOKULARINDA WWOX VE FHİT	16
TABLO 3 HİSTOLOJİK SKORLAMADAKİ PARAMETRELER VE KARŞILIK GELEN PUANLAR	18
TABLO 4 VAKALARIN LOKALİZASYONLARINA GÖRE DAĞILIMI	20
TABLO 5 ALTI AY VE ÜZERİ TAKİP EDİLEN HASTALARIN LOKALİZASYONLARINA GÖRE YAŞ DAĞILIMLARI	20
TABLO 6 Kİ-67 İLE REKÜRRENS/METASTAZ ARASINDAKİ İLİŞKİ	26

RESİMLER

RESİM 1 HISTOMORFOLOJİK BULGULAR.....	27
RESİM 2 FHİT VE WWOX EKSPRESYONU	28
RESİM 3 KI-67 İŞARETLENME İNDEKSİ %10'NUN ÜZERİNDE OLAN OLGUMUZ29	
RESİM 4 İNCE BARSAK YERLEŞİMLİ BİR OLGUMUZDAN MAKROSKOPIK GÖRÜNÜM	30
RESİM 5 İNCE BARSAK DUVARINDA PERFORASYONU OLAN BİR OLGUMUZDAN MAKROSKOPİK GÖRÜNÜM (HÜTF-B-10207-08).....	30

ŞEKİLLER

ŞEKİL 1 HASTALARIN TAKİP SÜRELERİNİN DAĞILIMI.....	21
ŞEKİL 2 HİSTOLOJİK SKORLA REKÜRRENS/METASTAZ ARASINDAKİ İLİŞKİ..	24
ŞEKİL 3 YENİ HİSTOLOJİK SKORLA REKÜRRENS/METASTAZ ARASINDAKİ İLİŞKİ	25

GİRİŞ

Gastrointestinal kanalın mezenkimal tümörleri epitelyal neoplazmlara göre daha az görülmesine rağmen nadir tümörler değildir. Gastrointestinal mezenkimal tümörler iki ana grub altında incelenmektedir. Küçük bir kısmını oluşturan birinci grupta yumuşak dokuda görülen lipom, leiomyom, hemanjiom gibi histolojik özelliklere ve benzer tanı kriterlerine sahip tümörler bulunmaktadır. Diğer daha geniş olan grup heterojen olup gastrointestinal stromal tümörler (GİST) olarak adlandırılır. Bunlar gastrointestinal (GI) kanalda herhangi bir yerden köken alabilirler ve köken aldıkları bölgeye has histolojik ve klinik özelliklere sahiptirler.

GİST'de onkojenik kinaz mutasyonlarının saptanması ile kinaz inhibitör tedavilerinin kullanılmaya başlanması hemen hemen aynı dönemlerde olmuştur. Bu da bu tümörlerin biyolojik özellikleri ile ilgili bilgilerde hızlı gelişmelere yol açmıştır.

Diğer tümörlerde olduğu gibi gastrointestinal stromal tümörlerin de biyolojik davranışlarını önceden tahmin edebilmek, uygun tedavinin seçilmesinde çok önemlidir. Klinik davranışın tahmininde GİST için üzerinde görüş birliğine varılmış olan en önemli prognostik parametre, tümöre tanı konduğu sıradaki yaygınlık derecesidir [1-2]. Morfolojik parametrelerin prognostik değerini belirlemeye yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Tümör çapı, selülarite, hücresel pleomorfizm, organoid büyüme paterni, mitoz sayısı, mukozal invazyon, tümör nekrozu ve Ki-67 proliferasyon indeksi literatürde bahsedilen kötü prognostik parametrelerdir.

1981-2009 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalı'nda tanı almış 102 GİST olgusunu kapsayan bu retrospektif araştırmanın amaçlarından biri, morfolojik kriterler ışığında malignite risk analizi yapılmasıdır. Ayrıca daha önce farklı tümörlerde denenmiş olan immünohistokimyasal belirteçlerin (FHİT, WWOX ve Ki-67) GİST'teki durumunu araştırmak da amaçlanmıştır .

GENEL BİLGİLER VE KLİNİK ÖZELLİKLER

GİST'in morfolojileri oldukça değişkendir. 1950'li yıllarda bu tümörler iğsi hücre morfolojisi göstermesi ve muskularis propria ile ilişkileri nedeniyle düz kas tümörleri altında sınıflanmaktaydı. Elektron mikroskopi ve immünohistokimyanın kullanımı ile birlikte GİST'in ayrı bir antite olduğu kabul edilmeye başlandı. 1983 yılında Mazur ve Clark bunları stromal tümör olarak adlandırmayı önermiştir [3]. Bu öneriden on yıl sonra bu tümörlerin benign yada malign olup olmadıkları tartışmalı olmasına rağmen CD34 pozitif olmalarının tespit edilmesi ile bu tümörlere dair yeni bir klasifikasyonun olması geniş kabul görmüştür. 1990'lı yıllarda bir grup araştırmacı GİST ile gastrointestinal duvardaki Cajal'ın interstisyel hücreleri arasında benzerlik tespit etmişlerdir. İntertisyel Cajal hücreleri gastrointestinal kanalda peristaltik kontraksiyonlar için *pacemaker* görevi görmektedir. Aynı dönemler içerisinde intertisyel Cajal hücrelerinin (ICC) KIT tirozin kinaz (CD117) eksprese ettikleri gözlemlenmiştir [4]. Bunun üzerine 1998 yılında, iki farklı grup tarafından, GİST'lerin sıklıkla CD117 eksprese ettikleri yönünde çalışmalar yayınlanmıştır [5-6]. Artık CD117'nin bu tümörlerin %95'inde pozitif olduğu ve tek spesifik marker olduğu bilinmektedir.

Günümüzde GİST'ler, GI traktın herhangi bir yerinde ortaya çıkabilen ve spesifik ve tipik olarak kit (CD117)-positive ve *KIT* ya da platelet-derived growth factor receptor alpha (*PDGFRA*) mutasyonu gösteren mezenkimal tümörler olarak tanımlanmaktadır [7-9]. GİST'ler relatif olarak nadir tümörlerdir. Örneğin İsveç'te yıllık insidansı yılda 14,5 /milyon olarak tahmin edilmektedir [10]. Yine Amerika birleşik devletlerinde yılda yaklaşık 4000 yeni vaka olduğu tahmin edilmektedir [9]. Bu tümörler genellikle orta yaş ve ileri yaş grubunda ortaya çıkmakla birlikte bazıları konjenital olarak ya da çocuklarda gelişebilmektedir. Bu tümörler cinsiyet ayırımı göstermemektedir. En sık midede (%60), daha az olarak jejunum ve ileum (%30), duodenum (%5) ve kolorektal bölgede (%5'in altında) görülürler [8-9]. Nadiren özefagus ve apendikste de tanımlanan vakalar mevcuttur [11-13]. Ayrıca retroperiton veya karın boşluğunda da (omentum veya mezenter) primer GİST görülebilmekte ve ekstra GI stromal tümörler olarak adlandırılmaktadır [14-15].

Başlangıç semptomları tümörün lokalizasyonuna, boyutuna ve bağırsak duvarının ne kadarının tutulduğuna bağlıdır. Benign tümörlerin büyük bir kısmı asemptomatik olup farklı nedenlerle yapılan cerrahi işlemler sırasında tesadüfen saptanır. Ancak benign

tümörler gastrointestinal kanama veya karın ağrısına neden olabilmektedirler. Ayrıca bu tümörler bulantı, kusma, kilo kaybı veya karında kitleye neden olabilirler. Malign tümörler ise nadiren asemptomatiklerdir. Belirti ve bulgular çoğunlukla endoskopi ve biyopsi ile sonuçlanır. Bazı vakalarda GİST histolojik tanısı derin biyopsi alındığında veya neoplazm mukozal tabakayı infiltre ettiğinde konabilir. Mukozal infiltrasyon çoğunlukla malignite göstergesi olmakla birlikte endoskopik olarak veya frozen örneklerinde benign-malign ayrımı her zaman mümkün olmamaktadır. Baryumlu grafiler, tomografi ve endoskopik USG'de sıklıkla tanıda kullanılmaktadır [16-17]. Ek olarak bazı tümörlerde ince iğne aspirasyon sitolojisi tanıya yardımcı olabilmekte ancak bu teknikle genellikle benign- malign ayrımı yapılamamaktadır [18].

GİST'in çoğu sporadik olmasına rağmen yaklaşık %5'inde nörofibromatozis tip 1 (NF1), Carney triadı ve ailesel GİST sendromuna eşlik edebilmektedir. NF1 vakalarındaki GİST'ler NF1 de görülen en sık gastrointestinal tümörlerdir [9]. Yapılan bir çalışmada NF1'li vakalarda duodenal GİST riski, normal popülasyona göre 180 kat fazladır [19]. Bu sendromda genellikle ince barsakta ve multipl olma eğilimindedirler [20-21]. NF1 ile ilişkili GİST'ler küçük, sitolojik olarak sakin, mitotik olarak inaktif ve siliy klinik seyir gösterirler. İnce barsakta multiple küçük GİST olguları saptandığında NF1 mutlaka akla gelmelidir. ICC'deki difüz hiperplazi çoğunlukla bu tümörlere komşu myenterik plexusta gözlenir. NF1 ile ilişkili GİST'lerin patogenezi sporadik GİST'lerden farklı gibi görünmektedir. Bazı çalışmalar bu tümörlerde KIT veya PDGFRA mutasyonlarının oldukça seyrek olduğunu göstermiştir [20, 22-24].

Gastrik GİST, paragangliom ve pulmoner kondrom'dan oluşan Carney triadında GİST genelde midede olmaktadır [25-26]. Daha genç yaşlarda ve kadınlarda belirgin olarak daha fazla (%85) görülür. Bu tümörlerin çoğu epiteloïd morfolojiye sahip olup yavaş klinik seyirlidirler. Carney, bu olgularda %13 oranında mortalite saptamış olup karaciğer metastazı olan bazı vakalarda bile hastalığın uzun yıllar stabil seyrettiğini gözlemiştir [25].

Familiyal GİST sendromlu bazı aileler tanımlanmıştır. Bu tümörler OD geçişli olup yapısal heterozigot aktive edici KIT ve PDGFRA mutasyonuna sahiptir [27-30]. Tipik olarak bu hastalar orta yaşlarda olup çok farklı klinik durumlarla ortaya çıkan multiple GİST geliştirme potansiyeline sahiptir. Mastositoz ve hiperpigmentasyon gibi KIT

aktivasyonunun diğer klinik belirtileri de bu hastalarda bulunabilir. İlginç olarak poliklonal ICC proliferasyonu da bu hastalarda GİST'e eşlik edebilir. Bu da hiperplaziden neoplazi gelişim ihtimalini artırır. Bunun yanında başka genetik değişikliklerde hiperplazi GİST dönüşümünde gereklidir [21, 31].

Çocuklarda GİST oldukça nadirdir. Tüm vakaların %1'inden azı pediatrik popülasyonda görülür [32]. Bu tümörler daha çok ikinci dekatta kızlarda ve genellikle de midede görülür. KIT ve PDGFRA mutasyonları genellikle bulunmaz [32-33].

GİST PATOGENEZİ

GİST'ler ICC veya onların kök hücre prekürsörlerinden gelişir veya farklılaşırlar [5-6]. ICC'ler barsağın pacemaker'ı gibi davranırlar [34-35]. GI otonomik sinirleri ile düz kas hücreleri arasındaki iletişimi sağlayıp GI motiliteyi düzenler ve peristaltizmi koordine ederler [36]. GI kanalda lokalizasyon ve yoğunlukları bölgeden bölgeye değişmekle birlikte, myenterik plexus çevresinde yoğun olarak bulunurlar [36]. Muskularis propria'nın iç ve dış tabakalarına doğru uzanım gösterirler. Bu hücreler kit (CD117) pozitiflerdir. Kit veya kök hücre faktörü (kit ligandı) defektif olan farelerde intestinal dismotilite görülmektedir [4].

GİST'TE SİTOGENETİK

1998 yılında Hirota ve ark. GİST'de aktive edici KIT mutasyonlarını tanımladılar [5]. Bu reseptörün aktive edilmesi, kontrolsüz büyümeye neden olur [37-38]. GİST'in %85'i en sık exon 11 de meydana gelen KIT gen (4q12) mutasyonu içerirler. Daha az olarakta exon 9, 13 ve 17 de mutasyonlar saptanmıştır [39-41]. Tam KIT mutasyonunun prognostik anlamı olmamasına rağmen mutasyon bölgesi ile imatinib (Gleevec) tedavisine yanıt arasında korelasyon vardır. Exon 11 deki mutasyonlar tedaviye yanıtı artırmaktadır [42].

GİST'lerin yakın zamanda PDGFRA gen mutasyonu içerdikleri saptanmıştır. Bu mutasyonlar genellikle exon 18 de saptanmakla beraber daha az olarak da exon 12 ve 14 de saptanmıştır [38, 42-43]. PDGFRA mutasyonu tüm GİST'in %10'undan azında ortaya çıkmaktadır ve CD117 pozitif ya da negatif olgularda bulunabilmektedir. PDGFRA mutasyonu gastrik GİST'de ve epiteloid morfolojiye sahip tümörlerde daha sıktır [44-46].

İmatinib tedavisinden sonra bir çok hasta tümör remisyonu göstermekle birlikte kazanılmış ilaç rezistansı ve sonrasında görülen metastazlar sıktır. İlaç rezistansında KIT ve PDGFRA genlerinde sekonder nokta mutasyonları bulunmuştur [47]. 14q ve 22q kaybı gibi diğer genetik değişiklikler de GİST'de bulunabilir. Spesifik bir gen henüz tanımlanmamış olmasına rağmen bu değişiklikler erken karsinogeneziste ortaya çıkıyor gibi görünmektedir [48-50].

PATOLOJİK ÖZELLİKLER

GİST'ler, barsak duvarının herhangi bir tabakasından gelişebilir ancak genellikle, submukoza veya muskularis propria'da yerleşir. Bazı tümörler ektramural olabilir, hatta komşu organları infiltre edebilir.

Çoğu vakada tümör sınırları bellidir ancak bazen multinodüler olabilir. Üzerindeki mukoza normal olabileceği gibi ülser de olabilir. Ülser benign veya malign tümörlerde görülebilmektedir. Kesit yüzeyleri tipik olarak granülerdir ve hemoraji, nekroz ve kistik değişiklikler içerebilir. Tümör boyutu veya makroskopik görünümü benign-malign ayrımında tek başına kullanılamaz.

Bu tümörler geniş bir histolojik spektruma sahiptirler ve buldukları bölgeye göre farklı görünürler. Histolojik olarak olguların %70'i iğsi hücreli, %20'si epitelyal, %10'u mikst tiptedir. Tümörlerin %70'i genellikle iğsi hücrelidir. İğsi hücreler storiform paternde olabileceği gibi palizatlanma yapabilir ya da "herringbone" patern gösterebilirler. Nükleuslar genellikle künt uçlu, mermi ya da sigara şeklinde olup bazen uzun ya da nokta şeklinde olabilir. Bazı tümör hücreleri geniş sitoplazmaya sahip olup hyalinize alanlar ya da skenoid fiberler içerebilir. Epiteloid tümör hücreleri birbirine yakın duran poligonal hücrelerden oluşur. Bazı tümörler alveoler patern gösteren küçük hücre yuvaları içerebilir. Stromal tümörlerin küçük bir kısmı fokal olarak belirgin pleomorfizm gösteren hücreler içerebilir ki bu tümörlerin mitoz sayısı >10/10BBA olarak sayılabilir.

Çok nadir bir histolojik varyant olan "gastrointestinal autonomic nerve tumors (GANT)" GI sistemin herhangi bir yerinde bulunabilmekle birlikte daha çok ince barsak ve midede bulunurlar. Bu tümörler solid büyüme paterni göstermekte ve küçük ya da orta büyüklükte, iğsi yada epiteloid hücrelerden oluşmaktadır. Hücreler komşu hücreleri saran adrenerjik yada kolinerjik uzun aksonal uzantılara sahiptir. Mitoz oranları 1-23/BBA olarak bulunabilir.

Bir başka histolojik GİST varyantı taşlı yüzük hücreleri içeren tümörlerdir. Bunlar genellikle kadınlarda görülüp boyutları küçüktür (<2.5cm). Midede ince barsakta ve rektumda serozal nodüller şeklinde görülürler. Hücreler histolojik olarak yuvarlak-oval nükleuslu, çekirdeği periferite itilmiş şeffaf sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Bu taşlı yüzük benzeri hücreler işsi hücreler ile birleşme eğilimi gösterir. Tümör hücreleri belirgin miksoid matrikse sahiptirler.

Mezotelyoma benzeri GİST varyantı tipik olarak miksoid stroma içerisinde epiteloid hücre grupları ve psödoglandüler alanlar içerir. Rabdoid hücreler içeren GİST'ler paranükleer girdap benzeri vimentin filamentler içerir. Onkositik varyant büyük miktarda mitokondri içerir. Küçük hücreli varyant angüle nükleuslu kalabalık görünümüne hücrelerden oluşur. Bazen tümör hücreleri paraganglioma benzeri alanlar oluşturabilir. Sitotoksik T hücrelerinden zengin GİST de olabilir. Genellikle mide özefagus ve mezenterde bulunurlar. Histolojik olarak klasik tümör hücreleri arasında sitotoksik T hücreleri içerirler.

Özefagial GİST'ler nadirdir ve genellikle maligndirler. İntramural olabilecekleri gibi polip şeklinde de görülebilirler.

Mide, bu tümörlerin en sık görüldüğü bölge olup genellikle benignedirler. Fundik ya da gastroözefagial bölgede yerleşenler antral tümörlere göre daha maligndirler. Selüler, işsi hücreli ya da epiteloid olabilirler, hyalinizasyon ve miksoid dejenerasyon sıktır.

İnce barsak tümörleri ise mide lokalizasyonuna göre daha maligndirler. Benign olanlar genellikle küçük (<5cm), düşük selülaritede ve sakin işsi hücrelerden oluşur. Eozinofilik kollajen globüller (skenoid fiber) karakteristiktir ve genellikle duodenal tümörlerde görülür. Mitoz düşüktür (<5/50BBA) ve nekroz ve mukozal invazyon içermezler. Malign tümörler selülerdir ve sitolojik atipi belirgindir. Mitoz %5'in üzerindedir. Organoid büyüme paterni daha azdır. Skenoid fiber'lar çok az ya da görülmezler.

Kolorektal GİST'ler genellikle işsi hücrelidirler ve %50'si maligndir. İnfiltratif sınırlar, %5'in üzerinde mitoz sayısı ve mukozal invazyon kötü prognostik parametrelerdir. Tedavi sonrası tümör hücrelerinde birtakım histolojik değişiklikler meydana gelebilir. İşsi hücreler eozinofilik sitoplazmalı küçük yuvarlak/ovoid nükleuslu hücrelere

dönebilir. Miksohyalin stroma artabilir. Hemorajik, nekrotik ve kistik transformasyon olabilir. Proliferatif aktivite düşük CD117 pozitifliği kaybolabilir.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLER

GİST'te CD117'nin bir belirteç olarak kabul edilmesi, bu tümörlerde gözlenebilen morfolojileri daha da netleştirdi. Selim işi hücre proliferasyonundan, nükleer pleomorfizmle birlikte yüksek selülaritede epiteloid tümörlere kadar değişik morfolojik yapılar izlenebilmektedir. Ancak CD117'ye bakarak GİST tanısı koymanın bazı riskleri vardır. Öncelikle antikorun düzgün titrasyonu kritik öneme sahiptir. Yalancı pozitiflik, fibromatozis, leiomyosarkom ve diğer mezankimal tümörlerin yanlışlıkla GİST olarak kabul edilmesine neden olabilecektir [51]. CD117 de diğer immünohistokimyasal (IHK) belirteçler gibi tümör morfolojisi ve anatomik lokalizasyona göre değerlendirilmelidir. İkinci olarak, CD117 boyanması, yoğunluk ve dağılım açısından dikkate alınmalıdır. KIT, normalde hücre yüzeyinde bulunan bir glikoprotein reseptör tirozin kinaz'dır. Ancak bazı tümörlerde boyanma sitoplazmik olabilmektedir. Bu durum GİST'i ekarte ettirmemektedir. Son olarak, yakın zamanda yapılan bazı çalışmalarda, CD117 veya KIT negatif GİST'ler tanımlanmıştır. Bu konulara dikkat edildiğinde CD117 GİST'lerin çoğunda tanıya yardımcı olmaktadır.

Moleküler çalışmalarda, GİST'lerde yine bazı diğer immün belirteçler tanımlanmıştır. Bunlardan biri, protein kinaz C ailesinin bir üyesi olan ve GİST'lerin çoğunda ve T hücreleri gibi diğer bazı hücrelerde de bulunan PKC θ 'dir. PKC θ 'nin GİST'lerde immünohistokimyasal olarak boyanması dokümente edilmiştir [52-54]. Ancak fazla miktarda zemin boyaması nedeniyle kullanımı sınırlanmıştır. PDGFRA boyanması KIT negatif GİST'leri tanımlamak için geliştirilmiştir. Ancak diğer mezenkimal tümörlerde de eksprese edilmektedir. DOG-1, gen ekspresyonu analizleri esnasında saptanan fonksiyonu bilinmeyen bir yüzey membran proteindir [55]. Buna karşı geliştirilen monoklonal antikor, KIT negatif GİST'leri diğer sarkomlardan ayırmada kullanılabilir.

GİST'lerin immünohistokimyası ile ilgili bulgular son 25 yılda gelişmiştir. İlk çalışmalar miyoid ve nöral antijenlerin ekspresyonu üzerine odaklanmış ancak sonuçlar çelişkili olmuştur. Daha sonra bir hematopoietik kök hücre belirteci olan CD34 GİST'lerin yaklaşık %70'inde eksprese olduğu saptanmıştır [56-58]. Ancak son yıllardaki çalışmalar GİST'deki en sensitif belirtecin CD117 olduğunu göstermiştir. Bu marker

GİST'lerin %95'inden fazlasında eksprese olmaktadır [6,8]. Boyanma paterni genellikle kuvvetli difüz ve sitoplazmiktir. Ancak epiteloid morfolojideki bazı tümörlerde membranöz boyanma ve yine bazı tümörlerde perinükleer noktasal boyanma (golgi zon paterni) görülebilmektedir. Bazı vakalarda özellikle küçük biyopsi örneklerinde yamalı immünreaktiviteye bağlı yalancı negatif boyanmalar olabilmektedir. Vakaların %5'e kadarlık kısmında CD117 negatif olabilir. Bunlarında çoğunda PDGFRA mutasyonu mevcuttur [46]. Nadiren CD117 boyanması olmaksızın tümörlerde KIT mutasyonu saptanabilmektedir. GİST'lerin çok küçük bir kısmında CD117 boyanması, KIT ya da PDGFRA mutasyonu saptanamamaktadır. CD117 GİST'de yüksek sensitiviteye sahip olmasına rağmen seminom, mastositom ve granülozik sarkom gibi bir çok diğer tümörde de bulunabildiğinden GİST için spesifik olmaktan uzaktır. Ayrıca intraabdominal anjiosarkom, metastatik melanom, şeffaf hücreli sarkom, PNET/Ewing sarkomlarında da CD117 ekspresyonu olabilmektedir [46]. Bu noktada PDGFRA ekspresyonu ile ilgili veriler çok tutarlı değildir. Parafine gömülü dokularda tekrarlanabilir sonuçlar elde edilememiştir. [59].

Yakın zamanda PKC θ GİST'ler için mükemmel bir belirteç olduğu düşünülmüştür [52-53]. Gen ekspresyon çalışmaları ile nöronal diferansiyasyonda rol aldığı saptanan bu gende overekspresyon saptanmıştır [54]. Yakın zamanda Kim ve arkadaşları CD117 negatif tümörlerinde içinde bulunduğu 220 vakalık bir GİST serisinde PKC θ ekspresyonunu 212 vakada saptamışlardır [52].

GİST'lerin yaklaşık %30'unda düz kas aktini, kalponin ve H-kaldesmon gibi kas belirteci ekspresyonu mevcuttur. Ancak Desmin çok nadiren eksprese edilmektedir. İlginç olarak İmatinib mesilat tedavisi bazı GİST'lerde desmin ekspresyonunu artırmaktadır [60]. S100 protein ekspresyonu çok nadirdir. Vakaların yalnızca %5'inde fokal S100 immünreaktivitesi mevcuttur. İnce barsak tümörlerinde S100 daha sık olarak saptanır [61]. Bu tümörler diğer nöral antijenler olan nöroflaman protein ve GFAP gibi antijenler yönünden negatiftir. Nestin tipVI intermediate filament olup kök hücreler tarafından eksprese edilmektedir. GİST'lerde de yine büyük oranda pozitif olup diğer gastrointestinal mezenkimal tümörlerde örneğin schwannomlarda pozitif olmaktadır [62-63]. GİST'lerin küçük bir kısmında CK8 ve CK18 için fokal immünreaktivite saptanabilmektedir. Buda epiteloid GİST'lerin karsinomlardan ayrılmasında akılda tutulmalıdır [62].

ONKOJENİK KİT MUTASYONU

Hirota ve arkadaşları 1998 yılında GİST'de KIT kinaz mutasyonu ile ilgili gözlemlerini yayınladılar [5]. Bu dünya çapındaki birçok laboratuvar tarafından doğrulanmıştır. Bu mutasyon kinazın yapısal aktivasyonuna neden olmaktadır ve mutant KIT GIST'te mükemmel bir terapötik hedefdir. Bu nedenle GİST'lerdeki KIT mutasyon tiplerini ve bunların biyolojik sonuçlarını incelemek uygun olacaktır. KIT tip III reseptör tirozin kinazdır ve PDGFRA ve PDGFRB ile yakın ilişkidir. Ayrıca makrofaj koloni stimüle edici faktör reseptörü (CSF1R) ve FI sitokin reseptörü (FLT3) ile de yakın ilişkidir. KIT mutant GİST'de kuvvetli KIT fosforilasyonu ile birlikte MAP kinaz (RAF, MEK, ERK), STAT ve fosfotidil inositol 3 kinaz /AKT yollarında aktivasyon saptanmıştır [7, 54, 64-65].

ONKOJENİK PDGFRA MUTASYONU

KIT gen mutasyonu göstermeyen GİST'lerde başka bir reseptör tirozin kinaz olan PDGFRA tanımlanmıştır [42]. PDGFRA KIT ile benzer şekilde ekstraselüler ve sitoplazmik bölgelere sahiptir.

AYIRICI TANI

GİST'lerin ayırıcı tanısına bu bölgede ortaya çıkan diğer iğsi ve epiteloïd neoplazmlar girmektedir. Bunlardan en önemlileri düz kas tümörleri, sinir kılıfı tümörleri, fibromatozis, inflamatuvar fibroid polip, inflamatuvar myofibroblastik tümör, foliküler dendritik hücreli tümör ve diğer tip sarkomlardır.

Düz kas tümörleri (leiomyom ve leiomyosarkom) GI traktta ortaya çıkabilir. Bu tümörler genellikle sakin, daha koyu eozinofilik sitoplazmaya sahip olup genellikle aktin, desmin pozitif, CD117 negatiftirler.

GI schwannomlar en sık sinir kılıfı tümörü olup genellikle midede görülürler. Bunlar fokal atipi gösteren iğsi hücre demetlerinden oluşurlar. Mikrotrabeküler gelişim paterni sergilerler ve yoğun periferik lenfoid infiltrat ile ilişkilidirler. Bunlar kuvvetli S100 ve GFAP pozitif olup CD117 negatiftirler.

İntraabdominal fibromatozis sporadik olarak, familial adenomatöz polipozis ya da Gardner sendromunun komponenti olarak GI traktta gelişebilirler. Bu hücreler iğsi ya

da yıldızlı görünümde olup sakin nitelikte kollajenle ilişkili demetler oluştururlar ve homojen dağılımlı ince duvarlı vasküler yapılara sahiptirler. Bazı otorler bu tümörlerde CD117 ekspresyonu saptamışlardır [63]. Ancak fibromatozisler genellikle GİST de eksprese olmayan β katenin eksprese ederler [66].

İnflamatuvar fibroid polip ve inflamatuvar myofibroblastik tümör daha az sıklıkla ayırıcı tanıya girerler. İnflamatuvar fibroid polip genellikle terminal ileum ve midede görülmekle birlikte intamural yerleşimlidir ve mukozal ülserasyona neden olmaktadır. Bu lezyon iğsi ve yıldızlı hücrelerden oluşmakta genellikle kan damarları ve inflamatuvar hücreler (özellikle eozinofil) ile ilişkidir. Birçoğu CD34 boyanmakla birlikte CD117 negatiftirler [67-68]. İnflamatuvar myofibroblastik tümör çocuklar ve genç erişkinlerde GI traktı da etkileyen intraabdominal kitle olarak görülürler. Yapısal hücresi myofibroblastlar olup kollajen ve inflamatuvar hücrelerle içiçedirler. Bu hücreler CD117 negatif, ALK (anaplastik lenfoma kinaz) pozitifler [68]. Foliküler dendritik hücreli tümör çok nadir olup GİST'i taklit edebilirler. Ancak tümör hücreleri CD21 ve CD35 eksprese edip CD117 negatiftirler [69].

Epiteloid morfolojideki GİST'ler karsinomlar, lenfoma, melanoma/şeffaf hücreli sarkom ve diğer yuvarlak hücreli sarkomlarla karışabilirler. İmmünohistokimya paneli ve moleküler genetik çalışmalar bu tümörlerin ayrımında yardımcıdır.

TEDAVİ

GİST'lerin primer tedavisi cerrahidir. Cerrahi ile düşük ya da intermediyet riskli tümörlerde kür sağlanabilir. Lenfadenektomi gerekli olmayıp pediatrik olgularda korunabilirler. Bu yüzyılın başlarında unrezektable yada metastatik tümörlerde tedavi seçenekleri çok yoktu. Kemoterapi yada radyoterapi etkili değildi ve ortalama yaşam süresi 18 ay kadardı. Kinaz inhibitörlerinin kullanımı ile (GleevecTM) umutlar artmıştır ve yaşam süresi 6 yıla kadar artan vakalar saptanmıştır.

PROGNOZ

1980'li yıllardan beri GİST'in histolojik özellikleri ve klinik davranışları arasında ilişki kurmak için çeşitli çalışmalar yayınlandı. Bazı özellikler klinik sonuçlarla korele olsada pratikte bu kurallar her zaman geçerli değildir. Nadiren histolojik olarak benign görünümlü tümör klinik olarak malign davranabilmektedir. Bazı yazarlar bu tümörlerin çoğunu histolojik özelliklere göre benign ya da malign olarak ayrılabilceğini söylesede bazı yazarlar bu tümörlerin en azından düşük malign potansiyelli tümörler

olabileceğini öne sürmektedir. Nisan 2001 yılında National Institutes of Health (NIH) tanı ve prognostik özellikler için bir çalışma toplantısı düzenledi [1]. Bu tümörler boyut ve mitoz sayısına göre çok düşük risk, düşük risk, orta risk ve yüksek risk olarak sınıflanmıştır. Ancak bazı diğer karakteristik özelliklerin bu değerlendirilmeye alınmaması ve tümör lokalizasyonu ile ilgili bir değerlendirmenin yapılmamış olması göze çarpmaktadır. Yakın zamanda Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) geniş bir klinikopatolojik çalışma yapmıştır [8, 32, 61]. Bu çalışmada da tümör boyutu ve mitotik aktivite göz önünde bulundurulmuş, ancak bu kriterlerin mide ve ince barsak için farklı olduğu saptanmıştır.

FHİT ve WWOX

İnsanda kanser gelişimi çevresel karsinojenlere maruziyetle yakından ilişkilidir. İnsan genomundaki fragil bölgeler, DNA değişikliklerine ve sonuçta, bir çok mutajen ve karsinojenlere oldukça hassastır [70]. Çok basamaklı kanser gelişimi sürecinde bu fragil bölgeler ve bunlarla ilişkili genler karsinogeneze neden olmaktadır [71-73]. FRA3B ve FRA16D, en sık eksprese edilen fragil bölge lokuslarıdır [74-75]. Fragil histidin triad (FHIT) ve WW domain-containing oxidoredüktaz (WWOX) sırasıyla FRA3B ve FRA16D bölgelerinde yer alan tümör süpresör genlerdir [71, 73]. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, sindirim kanalını da içeren tümörlerde fragil bölge ilişkili genlerin önemli rolü olduğunu göstermektedir [56]. Fhit ekspresyon kaybı invaziv tümörlerde kötü prognostik faktörler ile ilişkili bulunmuştur [76]. Sigara içenlerde oksidatif stres, onarılmaz DNA hasarlarına neden olur. FHIT geninin genomik yerleşimi 3p14.2 olup bu bölge, insan genomunun bu tür hasarlara en hassas bölgelerinden biridir. Önceki çalışmalarda küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde uzun süre sigara kullanım hikayesi olanlarda bronş epitelinde 3p14.2 alel kaybı sıklıkla gözlenmiştir. Fhit proteinin fonksiyonu tam olarak bilinmemesine rağmen hücre proliferasyonun da rol oynadığı ve sigara içenlerde erken moleküler lezyon olduğu bilinmektedir. Sigara içenlerde Fhit bölgesindeki moleküler alterasyonlar sigaranın indüklediği karsinogeneze erken hedeflerdir [77]. Literatürde Fhit protein ekspresyon kaybı ya da belirgin azalmanın olmasının prognostik değeri ile ilgili çelişkili sonuçlar vardır. Bazı çalışmalarda fhit ekspresyon kaybı olanlarda, olmayanlara göre daha kötü prognoz saptanmışken, bazı çalışmalarda ikisi arasında fark anlamlı bulunmamıştır [27]. Skuamoz hücreli karsinom ve adenokarsinomda fhit

ekspresyon kaybı daha düşük sağkalım süreleri ile ilişkili olarak bulunmuştur [77]. Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinden özellikle SCC gelişiminde Fhit proteini önemli bir rol oynamaktadır. Fhit kaybının tümör hücrelerinde yüksek proliferasyon ve düşük apoptotik indeks ile korele olduğu ve bağımsız bir kötü prognostik parametre olduğu gösterilmiştir [78]. Mide kanserlerinde Fhit protein ekspresyonu invazyon derinliği, lenfatik invazyon, lenf nodu metastazı, karaciğer metastazı ve evreleme ile negatif bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir. İntestinal tip mide kanserlerinde diffüz tipe göre Fhit daha yüksek oranda eksprese edilmektedir. Fhit ekspresyonu mide kanserlerinde p53 ekspresyonu ile pozitif ilişkilidir. Fhit ekspresyonunun down regülasyonu hücrelerde apoptoz ve proliferasyon arasındaki dengeyi bozarak gastrik karsinogeneze yol açmaktadır [79]. Fhit ve wwox ekspresyonu prekanseröz serviks lezyonları ve invaziv serviks kanserinde araştırılmış olup kanser hücre dizilerinde bu iki gendeki protein ekspresyonu azalmış ya da kayıp olarak bulunmuştur ve fhit ve wwox ekspresyonundaki değişiklikler bu neoplazinin progresyonunda kritik öneme sahiptir [80]. Fhit ekspresyon kaybı HSIL'in invaziv karsinoma progresyon göstergesi olarak kullanılabilir bir marker olduğu gösterilmiştir [81]. GİST'te daha önce hiç denenmemiş olan bu proteinler ilk kez burada imünhistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Oral kavite skuamoz hücreli kanserlerde Fhit ekspresyon kaybı kötü prognozla ilişkilidir [82]. Dediferansiye kondrosarkomda Fhit ekspresyon değişikliklerinin high grade anaplastik sarkom dönüşümünden sorumlu olabileceği gösterilmiştir [83]. Memenin malign filloides tümörlerinde ise yapılan analizlerde Fhit gen ekspresyon kaybı gösterilememiştir [84]. GİST'te daha önce hiç denenmemiş olan bu proteinler ilk kez burada imünhistokimyasal olarak değerlendirilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

ÇALIŞMA GRUBUNUN TANIMLANMASI

Bu çalışma kapsamına 1981-2009 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 102 olgu alınmıştır. Olguların klinik verileri hasta dosyalarından temin edilmiş olup makroskopik veriler ameliyat raporu ve patoloji raporlarından derlenerek elde edilmiştir. Değerlendirme kapsamına aldığımız veriler; metastaz varlığı, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu olarak en geniş çap, selülarite, pleomorfizm, mitoz sayısı, organoid büyüme paterni, nekroz varlığı, mukozal invazyon varlığıdır. Ayrıca bu tümörlerde Ki-67, fhit ve wwox protein ekspresyonları değerlendirilmiştir. 102 olgunun 74'ünün takibine ulaşılmıştır. Klinik takipler 1 ay ile 240 ay arasında değişmektedir. 6 ay ve üzerinde takibi olan 60 olgumuz mevcuttur.

HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME

Olgulara ait hematoksilin-eozin (H&E) boyalı preparatlar yeniden değerlendirilmiş olup şu parametreler dikkate alınmıştır; gelişim paterni, hücresel morfoloji (iğsi ya da epiteloid), organoid büyüme paterni, hücresel yoğunluk, pleomorfizm, tümör nekrozu varlığı, mukozal invazyon varlığı ve mitoz sayısı. Tümör hücrelerinin tek tek ya da gruplar halinde muskularis propriayı ya da serozal dokuyu ayırır tarzda gelişmiş olmaları "infiltratif gelişim paterni" olarak değerlendirilirken, tümör ve çevre doku arasında iyi bir sınır olması "ekspansil gelişim paterni" kabul edilmiştir. Hücresel yoğunluk az yada çok yoğun şeklinde iki değer arasında derecelendirilmiş olup "yoğun selülarite" olarak arada sitoplazmaların az izlenebildiği nükleer üstüste binmelerin olduğu alanların olup olmaması gözönünde bulundurulmuştur. Pleomorfizm 100x büyük büyütmede değerlendirilmiş olup nükleer boyut ve şekil farklılıklarına göre yok-fokal-şiddetli (0-1-2) olarak değerlendirilmiştir. Bizarre nükleuslu ya da multinükleer tümör dev hücrelerinin varlığı şiddetli pleomorfizm grubunu oluşturmuştur. Nekroz varlığı için mukozal ülserasyon alanından uzak koagülasyon nekroz alanları aranmıştır. Mukozal invazyon 80 olguda değerlendirilmiş olup kriter olarak tümör hücrelerinin lamina propriada kripler arasında infiltrasyonu esas alınmıştır. Mitoz sayımı hücresel yoğunluğun en yüksek olduğu varsa ilk mitozun görüldüğü alandan başlanarak ardışık 10 büyük büyütme alanında (1BBA:axioscope, Zeiss, Germany/400x/0,08 mm²) yapılmıştır.

İMMÜNHİSTOKİMYA

İmmünohistokimyasal inceleme %10'luk formalin solüsyonunda fikse edilmiş olan dokuların parafin bloklarından hazırlanan kesitlerde yapılmış olup her olgu için tek bir blok seçilmiştir. Seçilen blokların tümöral gelişimi en iyi yansıtır olması yanısıra pozitif iç kontrol olarak kullanılması amacıyla normal dokuyu da temsil ediyor olmasına dikkat edilmiştir. Her bir antikör için immünohistokimyasal uygulama tüm olgulara tek seansta uygulanmıştır.

İmmünohistokimyasal boyama avidin-biotin peroksidaz metodu kullanılarak yapıldı. Formaldehitte fikse olmuş, parafine gömülmüş dokulardan hazırlanan bloklardan hazırlanan kesitler, 40 dakika boyunca 75°C'de etüvde deparafinize edildikten sonra ksilende 10 dakika ve takiben %96'luk etil alkolde rehidrate edildi. Daha sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için 10 dakika boyunca %3'lük hidrojen peroksit-metanol solüsyonu ile muamele yapıldı. Antijen açığa çıkarma (retrieval) için preparatlar önceden ısıtılmış 10 mmol/L tamponlanmış sitrat (pH 6,0) içerisinde basınçlı tencereye kondu. Kaynamaya başladıktan ve düdüğü öttükten sonra ısıtıcı ayarı düşürüldü ve 3 dakika sitrat ile kaynamaya bırakıldı. Tencere çeşme altına alınarak soğuması sağlandı ve preparatlar tencere içinde 5 dakika boyunca yıkandı. Kesitler *phosphate buffer saline* (PBS: 0,5 M NaCl, 25mM Sodium Phosphate, 100 mM NaCl (pH: 5,0)) solüsyonuna alınarak 5 dakika bekletildi. Daha sonra kesitler Skytek® HRP Anti-Polyvalen kit kullanılarak önce süper blokta 5 dakika bekletilip PBS ile yıkandı. Daha sonra 1:1000 anti-Fhit, 1:750 dilüsyonda anti-Wwox antikoru ve hazır dilüsyonla gönderilmiş Ki-67 antikoru damlatıldı ve 40 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası kesitler tekrar PBS ile yıkandı önce biotin bağlı ikinci bir antikör ile ardından da tekrar PBS ile yıkandıktan sonra peroksidaz ile eşleştirilmiş streptavidin ile 10'ar dakika muamele edildi. Kromojen olarak diaminobenzidin (DAB) kullanıldı ve zemin boyaması Hematoksilen ile yapıldı. Bu çalışmada kullanılan antikörler, kaynakları ve dilüsyonları Tablo 1 İmmünohistokimyasal Çalışmada Kullanılan Antikörler

Kaynakları ve Dilüsyonları

'de verilmiştir.

Antikor	Kaynak	Klon	Dilüsyon
Ki-67	Diagnostic bio system	Tavşan monoklonal	Predilüe
Anti-Wwox	Huebner Laboratuvarı	Tavşan poliklonal	1:750
Anti-Fhit	Huebner Laboratuvarı	Tavşan poliklonal	1:1000

Tablo 1 İmmünohistokimyasal Çalışmada Kullanılan Antikorlar Kaynakları ve Dilüsyonları

Tüm değerlendirmeler olguların klinik bilgilerine kör bir şekilde yapıldı. Daha önce yapılmış çalışmalardan Fhit ve Wwox proteinlerinin ekspresyonunun tümörlerde heterojen olduğu saptandığından tümör dokularında Fhit ve Wwox değerlendirmesi hem intensite hem de boyanmanın yaygınlığı ayrı ayrı hesaplanarak yapıldı. Boyanma intensitesi benign meme dokusuna yapılan kontrol boyama preparatı referans alınarak yapıldı. Zayıf sitoplazmik boyanmaya 1, orta şiddette sitoplazmik boyanmaya 2, kuvvetli sitoplazmik boyanmaya 3 puan verildi. Boyanma yaygınlığının değerlendirilmesinde %10'dan az boyanmaya 1 puan, %11–25 boyanmaya 2 puan, %26–50 boyanmaya 3 puan, %51–75 boyanmaya 4 puan ve %76–100 boyanmaya 5 puan verildi. Son skor ise bu iki puanın çarpılmasıyla elde edildi. Bu çarpım değeri

12-15 olan vakalar *ekspresyon kaybı minimal* olan; 12'den küçük değerler ise *kayıp veya azalmış ekspresyon* olan vakalar olarak ayrıldı. Puanlama ve skoruması şeması Tablo 2 İnvaziv Meme Karsinomu esas alınarak yapılan Wwox ve Fhit İmmünohistokimyasal Analizi Puanlaması ve Skoruması

'de özetlenmiştir.

Boyanma Yaygınlığı (Boyanan hücre yüzdesi)	Puan
<%10	1
%11–25	2
%26–50	3
%51–75	4
%76–100	5
Boyanma şiddeti	Puan
Zayıf	1
Orta şiddette	2
Kuvvetli	3

Tablo 2 İnvaziv Meme Karsinomu esas alınarak yapılan Wwox ve Fhit İmmünohistokimyasal Analizi Puanlaması ve Skoruması

Ki-67 protein ekspresyonu araştırılmasında 20'lik büyütmede tümör alanları taranmıştır. En yoğun boyanmanın olduğu bölge bulunup 40'lık büyütmeye geçilmiştir. 10BBA da pozitif boyanan nükleuslar sayılmıştır. Nükleusun herhangi bir yerinde ve herhangi bir yoğunlukta olan alanlar, pozitif kabul edilmiştir.

HİSTOLOJİK SKORLAMA

Tüm olguların H&E boyalı preparatları tekrar incelenerek morfolojik puan verilmiş ve histolojik skorlama yapılmıştır. Skorlama için kullandığımız parametreler; tümör çapı, selülarite, hücresel pleomorfizm, organoid büyüme paterni, mitoz, mukozal invazyon varlığı, tümör nekrozu varlığı ve Ki-67 proliferasyon indeksidir. Tümör çapı ≤ 5 ise puan 1, 6-10 cm ise puan 2, ≥ 10 cm ise puan 3, selülarite az ise puan 1, çok ise puan 2 olarak, hücresel pleomorfizm yok ise puan 0, fokal pleomorfizm varsa puan 1, yaygın pleomorfizm varsa puan 2, organoid büyüme paterni var ise puan 1, yok ise puan 2, mitoz 0/10BBA ise puan 0, $\leq 4/10$ BBA ise puan 1, $\geq 5/10$ BBA ise puan 2, mukozal invazyon yok ise puan 1, var ise puan 2, tümör nekrozu yok ise puan 0, fokal ise puan 1, yaygın ise puan 2, Ki-67 proliferasyon indeksi %1'in altında ise puan 0, %1-9 ise puan 1, ≥ 10 ise puan 2 olarak değerlendirilmiştir. Bu şekilde tüm hastalar toplam 16 üzerinden belli bir skor almışlardır. Puanlama ve skorlama şeması Tablo 2 İnvaziv Meme Karsinomu esas alınarak yapılan Wwox ve Fhit İmmünohistokimyasal Analizi Puanlaması ve Skorlaması

3'de özetlenmiştir.

A- Tümör çapı	Skor
5 cm ve altı	1
6-10 cm	2
10 cm üzeri	3
B- Selülarite	Skor
Az	1
Çok	2
C- Hücresel Pleomorfizm	Skor
Yok	0
Fokal	1
Yaygın	2
D- Organoid büyüme paterni	Skor
Var	0
Yok	1
E- Mitoz	Skor
0 /10hpf	0
4 ve altı /10hpf	1
5 ve üzeri /10hpf	2
F- Mukozal invazyon	Skor
Yok	0
Var	1
G- Tümör nekrozu	Skor
Yok	0
Fokal	1

Yaygın	2
H- Ki-67 indeksi	Skor
%1'in altında	0
%1-9	1
%10 ve üzeri	2
Toplam Skor	

Tablo 3 Histolojik skorlamadaki parametreler ve karşılık gelen puanlar

İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

İstatistiksel değerlendirme Statistical package for Social Sciences (SPSS) for Windows 15 programında yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama \pm std.sapma, kategorik değişkenler için % olarak verildi. Bağımsız gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın anlamlılığı bağımsız grup sayısı iki olduğunda Student's t veya Mann Whitney U testiyle bağımsız grup sayısının ikiden fazla olduğu durumlarda ise Tek Yönlü Varyans Analizi ya da Kruskal Wallis testiyle değerlendirildi. Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun anlamlı görüldüğü yerlerde farka neden olan grubu belirlemek amacıyla Kruskal Wallis çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Gruplar içerisinde farkın önemliliği Bağımlı-t testi veya Wilcoxon İşaret testi ile incelendi. Kategorik karşılaştırmalar için Ki-Kare testi kullanıldı. Sürekli değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı doğrusal ilişkilerin olup olmadığı Pearson korelasyon testleriyle değerlendirildi. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ayrıca yapılan histolojik skorlama ile hastalısız sağ kalım süresi arasındaki ilişki Log rank testi ile araştırıldı.

BULGULAR

KLİNİK, HİSTOMORFOLOJİK VE İMMÜNİSTOKİMYASAL BULGULAR

Retrospektif olarak incelenen 102 olgunun 44'ü kadın, 58'i erkekti. Hastaların yaşları 1,5 ay ile 86 yaş arasında değişmekteydi. Ortalama yaş $53,8 \pm 14,4$ olarak tespit edildi (Tablo 4). Hastalar maksimum 240 ay (ortalama $33,7 \pm 42,3$ ay) takip edilmişti. En az altı ay takibi olan hastalar dikkate alındığında median takip süresi 24 ay olarak bulunmuştur. Tüm hastaların takip sürelerinin dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir.

Tüm olgularda küratif amaçlı tümöral eksizyon ya da radikal cerrahi uygulanmıştır. Yine metastatik ve rekürren kitlelerde, inoperabl olgular dışında, cerrahi eksizyon yapılmış ve çoğu histopatolojik tanı ile desteklenmiştir. Cerrahiye rağmen nüks ya da metastaz olan olgularda ifosfamid, doksorubisin ve İmatinib içeren kemoterapi protokolleri uygulanmıştır. Neoadjuvan tedavi uygulanan bir olguda histopatolojik incelemede tümör dokusunda regresif değişiklikler dikkati çekmiştir (Bakınız Resim 1e).

			Yaş		
			0-20	21-40	>40
lokalizasyon	mide	kadin	0	4	10
		erkek	0	5	19
	incebarsak	kadin	0	6	12
		erkek	0	9	9
	kolon	kadin	1	1	4
		erkek	0	4	5
	mezenter	kadin	0	2	4
		erkek	0	2	3
Toplam			1	33	66
Genel Toplam			100*		

* Toplam 102 vakadan 2'sinin lokalizasyon bilgisine ulaşılamamıştır.

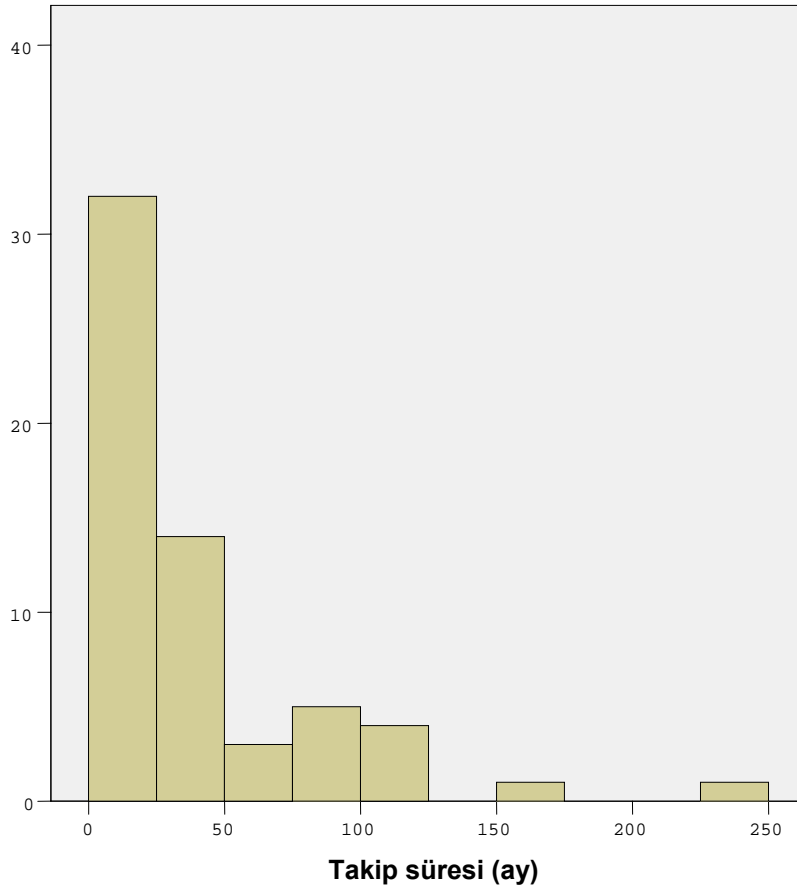
Tablo 4 Vakaların lokalizasyonlarına göre dağılımı

		Yaş		
		0-20	21-40	>40
lokalizasyon	mide-incebarsak	0	17	28
	kolon-mezenter	0	5	8
Toplam		0	22	36
Genel Toplam		58*		

* Toplam 60 vakadan 2'sinin lokalizasyon bilgisine ulaşamamıştır.

Tablo 5 Altı ay ve üzeri takip edilen hastaların lokalizasyonlarına göre yaş dağılımları

Vaka sayısı



Şekil 1 Hastaların takip sürelerinin dağılımı

Rekürrens ve/veya metastazla ilgili bilgilere ancak olguların 42'sinde ulaşılabilmiştir. Kırk iki vakanın 8'i (%19) tanı anında metastatikti. Bu nedenle istatistiksel değerlendirmeler en az 6 ay ve üzerinde takibi olan 60 olgu üzerinden yapılmıştır. Ortalama rekürrens ve/veya metastaz $15.8 \pm 20,8$ ayda saptanmış olup en geç 92. ayda saptanmıştı. Nekroz, mukozal invazyon, mitoz (Mantel Haenszel $p < 0,001$) ve histolojik skor (6'nın altı ve üstü) arasında istatistiksel olarak (Ki-kare) anlamlı ilişki

bulunmuştur ($p < 0.05$). Serimizde yer alan morfolojik verilerden metastazla ilişkisi en fazla olan bir parametre saptamadık. Çünkü kötü birkaç parametre hep birarada gitmektedir.

Tümör lokalizasyonu değerlendirildiğinde, mide ($n=38$, %37,3), ince barsak ($n=36$, %35,3) (Resim 3a ve 3b), kolon ($n=15$, %14,7), mezenter ve omentum ($n=11$, %10,8) olarak saptanmıştır (Tablo 4-5). Bu bulgu daha önceki çalışmalarla benzer niteliktedir [1-2,7]. Literatürde nadir de olsa görülen özefagus ve apendiks lokalizasyonlu tümörler bizim serimizde yer almamaktadır. Olgular mide, ince barsak, kolon ve mezenter olarak ayrıldığında mide lokalizasyonlu tümörler %23.8 oranında metastaz yaparken bu oran ince barsak, kolon ve mezenter için sırasıyla %66.7, %100 ve %85.7 olarak bulunmuştur. 6 ay ve üzerinde takibi olan 60 olgu mide-ince barsak ve kolon-mezenter olarak iki gruba ayrıldığında metastaz oranları sırasıyla %46 ve %92 olarak bulunmuştur. Ki-67 indeksi ile tümör lokalizasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p > 0,05$).

Vakaların 24'ünde (%23,5) tümör çapı 10 cm ve üzerinde iken 39 vakada (%38,2) 6 cm'nin altındaydı. Yine 31 vakada (%29,5) tümör çapı 6-10 cm arasındaydı. Bizim çalışmamızda tümör çapının metastazla olan ilişkisi istatistiksel olarak anlamlılık sınırına yakındır (Mantel Haenszsel $p=0,069$). Yine Ki-67 proliferasyon indeksi ile çap arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu (Spearman's rho $p=0.023$)

Hücre sel yoğunluk 47 (%46,1) olguda düşükken 55 (%53,9) olguda yüksek bulunmuştur. 0-1-2 şeklinde derecelendirerek incelediğimiz pleomorfizmin olgulara göre dağılımında sırasıyla, 18(%17,6), 68(%66,7) ve 16(%15,7)(Resim1a) şeklinde saptandı. Pleomorfizm gösteren olgularımızın oranı literatüre (%1-2) göre daha yüksekti. Sellülarite ve pleomorfizmin rekürrens ile metastaz arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Ancak Ki-67 proliferasyon indeksi ile arasında anlamlı bir ilişki mevcuttu. (Spearman's rho $p=0.022$ ya da $p < 0.05$)

Mitotik aktivite 10BBA'da 53 vakada (%52) 5 ve üzerinde saptanmıştı (Resim1b). Mitoz sayısı ile rekürrens/metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu (Ki-kare $p < 0.001$). Ki-67 proliferasyon indeksi ile beklenildiği üzere pozitif bir ilişki mevcuttu (Spearman's rho $p=0.000$).

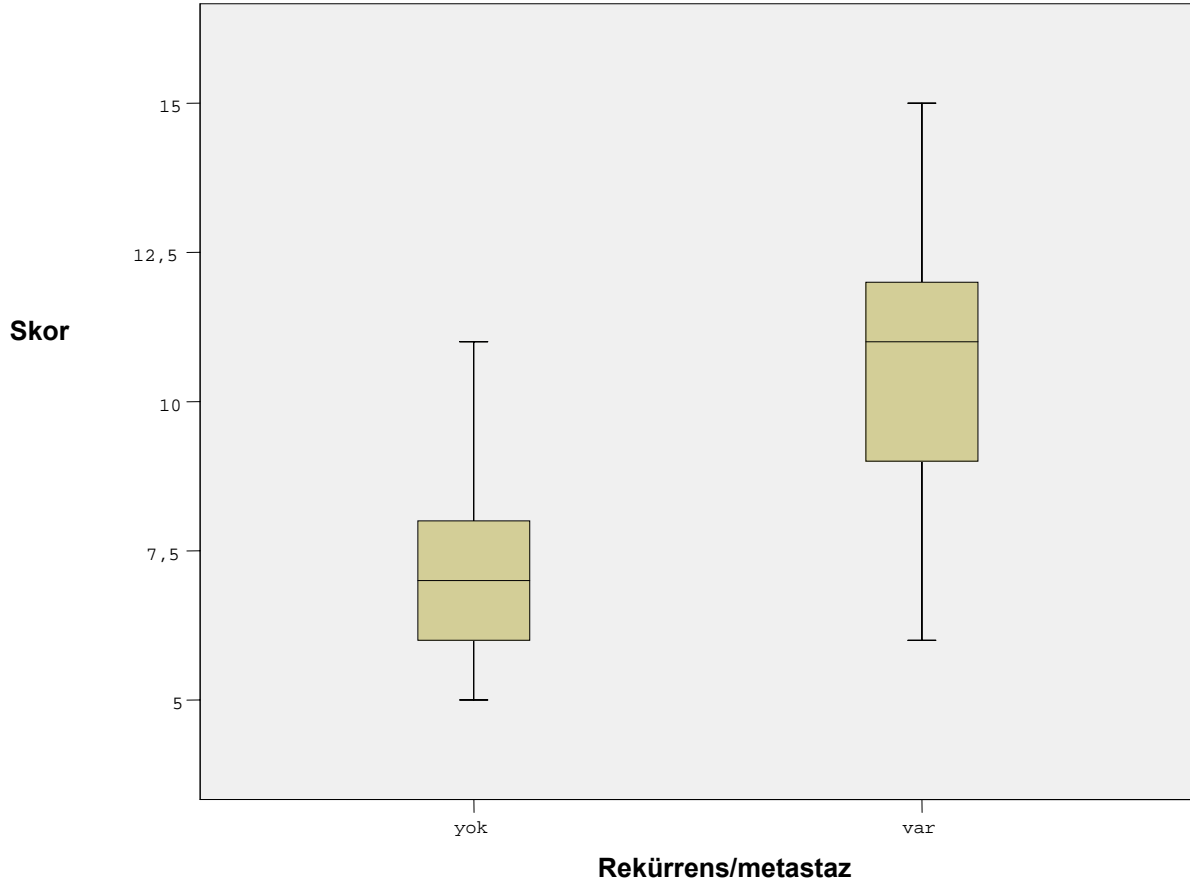
Mukozal invazyon 102 olgunun 80'inde değerlendirilmiş olup bunların 30'unda (%29,4) pozitif. Mukozal invazyon ile rekürrens/metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttu (Ki-kare $p<0.0015$). Ki-67 indeksi ile mukozal invazyon arasındaki ilişki de istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$, Ki-kare). Buna göre mukozal invazyon olan 27 vakanın sadece 3'ünde (%11) Ki-67 %1'in altındayken, mukozal invazyonu olmayan 40 vakanın 22'sinde (%55), Ki-67 indeksi %1'in altındaydı.

Koagülasyon nekrozu 57 (%55,9) olguda mevcuttu. İstatistiksel olarak (Ki-kare $p<0.001$) rekürrens ve metastaz ile anlamlı bir ilişki saptandı. Nekroz ile Ki-67 indeksi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,01$).

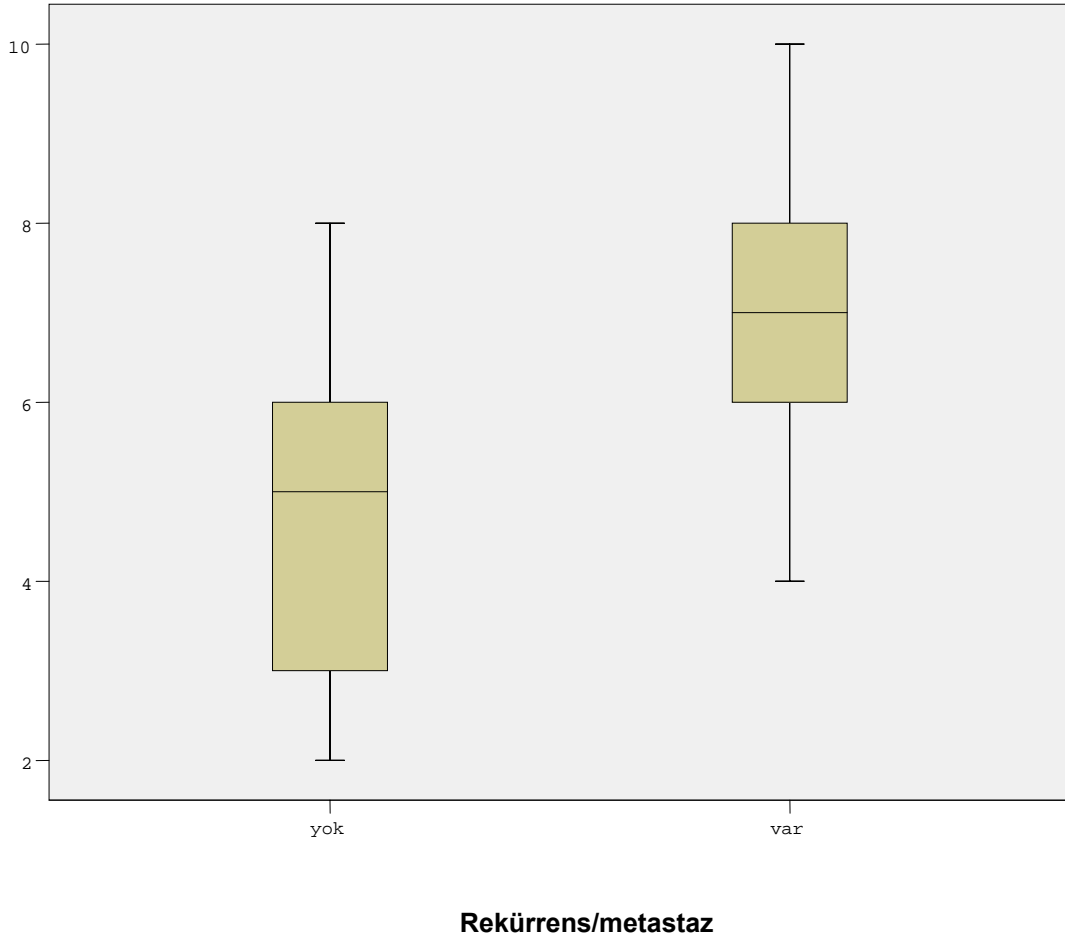
Histomorfolojik incelemede çevre dokuya komşuluğu değerlendirilebilen 88 olgudan 50'sinde (%56,8) infiltratif gelişim paterni izlenmiş olup 38 vakada (%37,3) ekspansil patern izlenmiştir. Olguların 77'si (%75,5) tamamen içsi (Resim 1d), 4 (%3,9) olgu tamamen epiteloïd (Resim 1a), 21'i (%20,6) ise hem içsi hem de epiteloïd morfolojiye sahipti. Epiteloïd olan toplam 4 vakanın 3'ü mide, biri ince barsak lokalizasyonluydu. Skenoid fiber olan bir olgumuz ince barsak lokalizasyonlu idi. Mukozal invazyonla cinsiyet, yaş, tümör çapı, arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamadı ($p>0,05$). Ancak mukozal invazyonla hücre tipi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,02$). Olgularımızdan birinde endoskopik biyopsi ile tanı konulmuş olup neoadjuvan kemoterapi uygulanmıştır. Bu olguya 4 ay sonra uygulanan cerrahi operasyon materyalinden hazırlanan kesitlerin incelenmesinde belirgin regresif değişiklikler dikkati çekmiştir (Bakınız Resim 1e ve 1f).

Histolojik skorlama ile metastaz/rekürrens arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ise sayısal olarak Tablo 4'te belirtilen şekilde hesaplanan Histolojik Skor'ların 6 ay ve üzerinde takibi olan 60 olguda rekürrens olan ve olmayan bireyler arasında farklı seyrettiği görüldü (Şekil 2). Bu skorlamada rekürrensi öngörmeye 7 ve üzeri kesim değerinin anlamlı olduğu görüldü ($p<0.001$) Histolojik skorları 7 ve üzerinde olan bireylerin metastaz oranını öngörmeye sensitivite %70, spesifite ise %84 olarak bulunmuştur. Histolojik skorlamanın pozitif prediktif değeri %85,7 iken negatif prediktif değeri %68,8 olarak değerlendirilmiştir. Yani ön planda metastaz olup olmayacağını öngörmeyi kolaylaştırmaktadır. Histolojik skorlama parametreleri içerisinde değerlendirilmesi daha subjektif olan hücresel pleomorfizm ve organoid büyüme

paterni çıkarılıp yeni skora yapılmıştır. Ancak yeni skora ile de benzer sonuçlar alınmıştır (Şekil 3). Her iki değerlendirmenin birbirine üstünlüğü bulunamamış her iki değerlendirme de benzer etkinlikte sonuç vermiştir.



Şekil 2 Histolojik skorla rekürrens/metastaz arasındaki ilişki

Yeni Skor

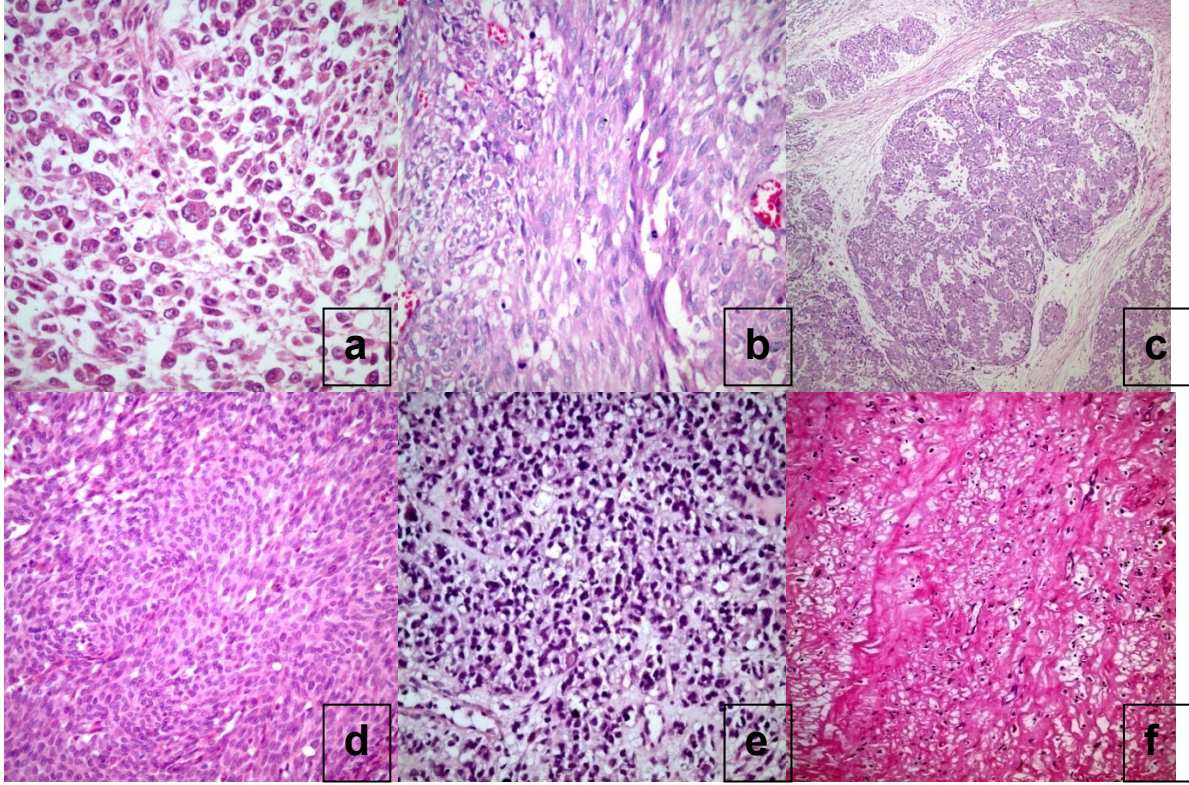
Şekil 3 Yeni histolojik skorla rekürrens/metastaz arasındaki ilişki

İmmünohistokimyasal olarak Ki67 ekspresyon kaybı, 6 ay ve üzerinde takibi olan 60 olguda rekürrens ve/veya metastaz saptanan hastaların 38'inde (38/42) değerlendirildi. Vakalar Ki67 indeksine göre <math><1</math> 8 vaka, %1-9 arası 17 vaka ve %10 ve üzeri 13 vaka şeklinde üç gruba ayrıldı (Resim 3). Ki-67 ile rekürrens ve/veya metastaz arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak kademeli olarak artış gösteren bir ilişki saptandı ($p<0,05$). Ki-67 proliferasyon indeksi önemli bir bağımsız prognostik parametre olarak bulunmuştur (Tablo 6).

		Rekürrens/Metastaz		Toplam
		yok	var	
ki67	<%1	11 (%57,9)	8 (%42,1)	19 (%100)
	%1-9	12 (%46,2)	14 (%53,8)	26 (%100)
	%10 ve üzeri	0	8 (%100)	8 (%100)
Toplam		23 (%43,4)	30 (%56,6)	53 (%100)

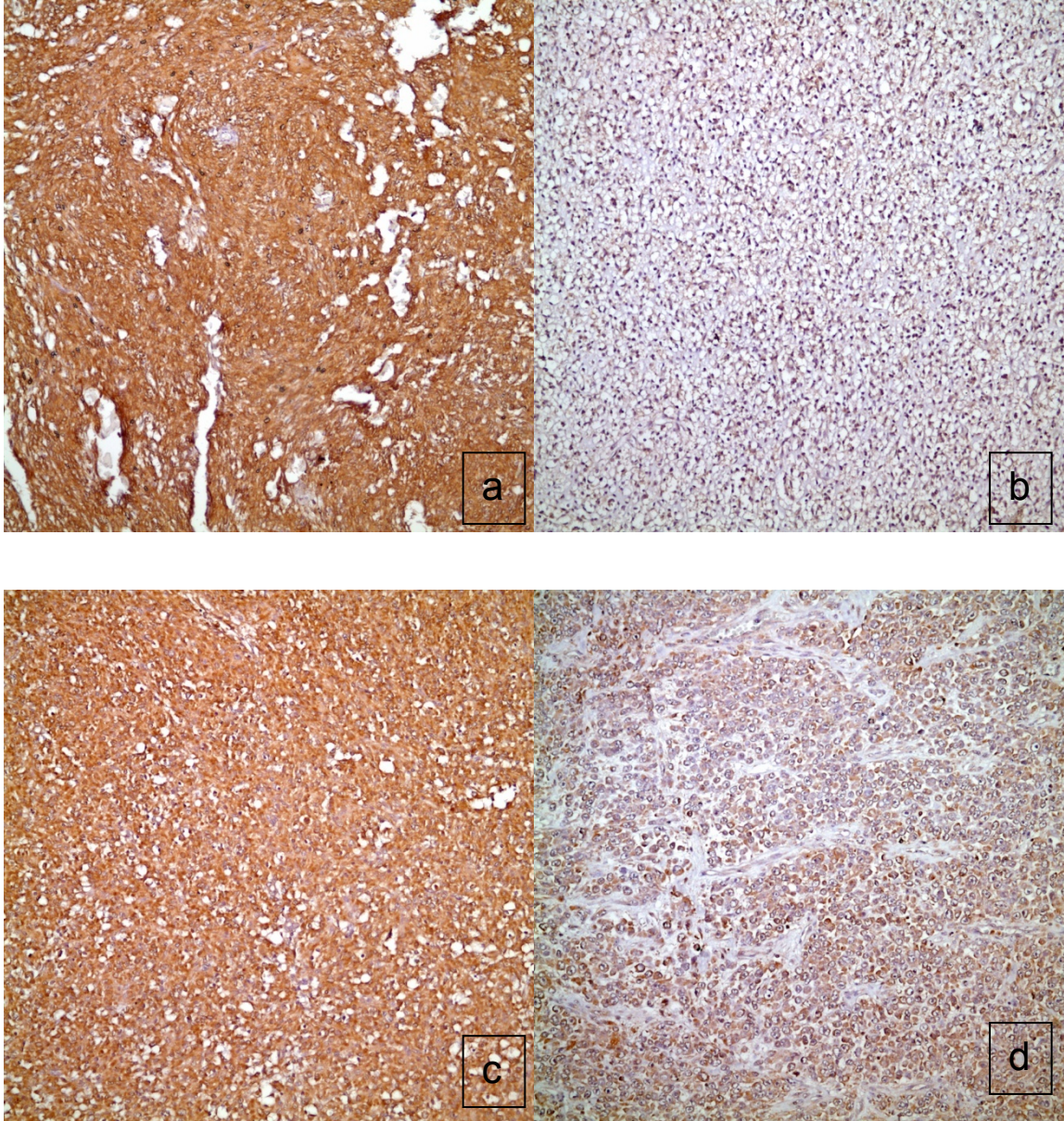
Tablo 6 Ki-67 ile rekürrens/metastaz arasındaki ilişki

İmmünohistokimyasal çalışmada Fhit ekspresyonu toplam 80 vakada değerlendirilmiş olup, bunlardan 22'sinde (%27,5) (Resim 2b) ekspresyon kaybı izlenmiştir. Seksen iki vakada değerlendirilen Wwox ekspresyon kaybı vakaların 18'inde (%22)(Resim 2d) izlenmiştir. Bu proteinler bu tümörlerde ilk kez değerlendirildiği için ayrı bir cut of değeri saptanmaya çalışılmıştır. Fakat istatistiksel olarak değerlendirildiğinde meme tümörlerinde saptanan değerlerden farklı bir kesim değeri bulunamamıştır. Bu nedenle literatürde daha önce meme tümörleri için tanımlanmış olan kesim değerleri (12 ve 15) dikkate alınmıştır [76]. Böylelikle GİST için bu proteinlerin kayıp oranı yaklaşık %20 olarak tespit edilmiştir. Fhit ekspresyon kaybı olan olgularda wwox ekspresyon kaybı da mevcuttu. Her iki proteinin ekspresyon kayıplarının korele olması da immünohistokimyasal değerlendirmenin sağlıklı yapıldığını göstermiştir. Fhit protein ve wwox protein ekspresyon kaybı ile pleomorfizm, nekroz, mukozal invazyon, mitoz ve metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p>0.05$). Ancak selülaritesi ve mitozu yüksek olan tümörlerde fhit ve wwox protein ekspresyon kaybı daha belirgin bulunmuştur ($p=0.04$).



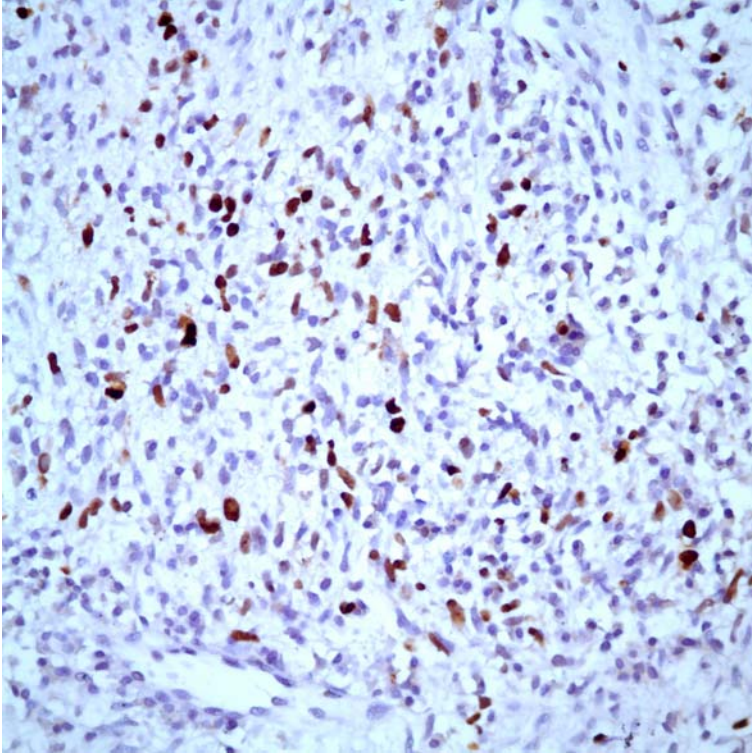
Resim 1 Histomorfolojik bulgular

- a- Belirgin pleomorfizm gösteren bir olgumuz. (HÜTF-B-14635-04) (H&E)
- b- Mitoz sayısı $\geq 5/10$ BBA saptanan olgumuz (HÜTF-B-15283-00) (H&E)
- c- Organoid büyüme paterni gösteren bir olgumuz. (HÜTF-B-14635-04) (H&E)
- d- Selülaritesi çok olarak değerlendirilen bir olgumuz. (HÜTF-B-6563-02) (H&E)
- e- Endoskopik biyopsi ile tanı konulmuş bir olgumuz (HÜTF-B-15558-07) (H&E)
- f- Neoadjuvan tedavi almış bir olgumuzdaki regresif değişiklikler (HÜTF-B-6890-08) (H&E)



Resim 2 FHİT ve WWOX ekspresyonu

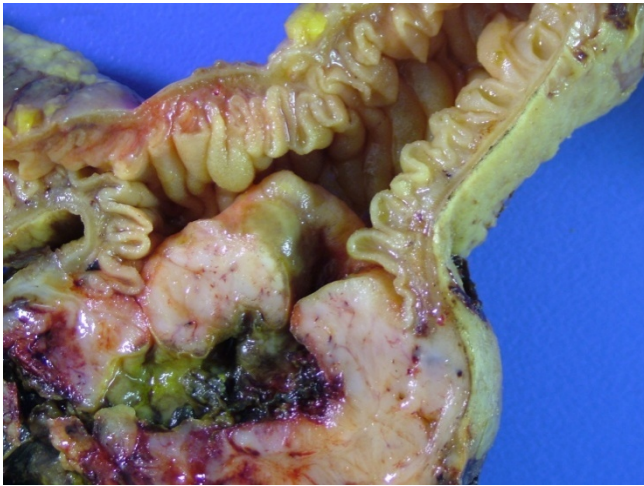
- a- FHİT için kaybın olmadığı (skor 15) olgumuz (HÜTF-B-6563-02)
- b- FHİT için kaybın olduğu olgumuz (skor 4)(HÜTF-B-12313-05)
- c- Wwox için kaybın olmadığı olgumuz (skor 15))(HÜTF-B-15733-04)
- d- Wwox için kaybın gözleendiği olgumuz (skor 5) (HÜTF-B-14635-04)



Resim 3 Ki-67 işaretleme indeksi %10'nun üzerinde olan olgumuz
(HÜTF-B-15558-07)



Resim 4 İnce barsak yerleşimli bir olgumuzdan makroskopik görünüm
(HÜTF-B-21438-08)



Resim 5 İnce barsak duvarında perforasyonu olan bir olgumuzdan makroskopik görünüm (HÜTF-B-10207-08)

TARTIŞMA

GİST'ler primer olarak gastrointestinal sistem, mezenter, omentum ve retroperiton kökenli iğsi ve/veya epitelooid hücrelerden oluşan heterojen bir neoplazi grubudur. Histomorfolojik özellikleri ve klinik seyirleri kendi içinde farklılıklar gösterebilen bu neoplazmların ortak immünohistokimyasal özelliklere ve sitogenetik anormalliklere sahip oldukları bilinmektedir [1-3]. Elektronmikroskopik ve immünohistokimyasal bulgular bu neoplazmların değişen oranlarda düz kas ya da nöronal diferansiyasyon gösterebileceklerini ortaya koymaktadır. Ultrastrüktürel ve immünohistokimyasal olarak intestisyel Cajal hücresi ile benzer özellikler taşımaları nedeniyle bu hücreden köken alabilecekleri belirtilmektedir. Ancak primer olarak mezenter, omentum ve retroperiton yerleşimli olguların mevcudiyeti nedeniyle İCH'in de köken aldığı daha primitif multipotent bir mezenkimal hücrenin varlığında akılda tutulmalıdır [6, 14, 85]. Genellikle ileri yaş grubunun etkilendiği ve her iki cinsiyetide benzer şekilde etkileyen stromal neoplazilerin NF1, Carney triadı gibi bazı sendromlarla birlikteliği, konjenital ve ailesel olguların varlığı bilinmektedir (1-9).Günümüzde GİST'lere yönelik tedavi yönetimi ve prognozu tahmin etmek için çeşitli moleküler sınıflamalar da yapılmaktadır [86].

Gastrointestinal stromal tümörler netleşmemiş histogenetik ve diferansiyasyon özellikleri ve tahmin edilmesi zor klinik seyirleri nedeniyle son yıllarda üzerinde en çok çalışılan konulardan birini oluşturmaktadır. Gastrointestinal traktın mezenkimal tümörlerinden olan bu özel tümörün c-kit reseptör tirozin kinazının inhibisyonunu hedefleyen ilaç tedavisinde (imatinib) prototip olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle 2001 yılında yapılan bir konsensus toplantısında patologların standart tanı kriterleri kullanmaları gerekliliği vurgulanmıştır [1-2, 10]. Bu toplantı sonucunda histomorfolojik ve klinik özellikleri ile özel bir mezenkimal tümör grubu olan bu tümörlerin çoğunlukla immünohistokimyasal olarak CD117 (c-kit protein) pozitifliğine sahip olduklarını ve "gastrointestinal stromal tümör" tanımının kullanılmasını önermişlerdir ve c-kit pozitifliğinin primer tanısal belirleyici olduğunu öne sürmüşlerdir. 4. Kromozomun uzun kolunda yer alan c-kit geninin ürünü olan KİT proteini, intrinsek tirozin kinaz aktivitesi taşıyan bir hücre membran reseptörüdür. Fonksiyonları ile embriyolojik gelişim ve erişkin yaşamda önemli role sahiptir ve bir çok hücrede (mast hücresi, melanosit, İCH, meme, tükrük bezi vs) eksprese edilmektedir.

Çalışmamızda 102 stromal tümör olgusunun morfolojik özellikleri immünohistokimyasal olarak fhit, wwox protein ekspresyonları ve Ki-67 proliferasyon indeksleri incelenmiştir. 44'ü kadın, 58'i erkek hastadan oluşan çalışma grubumuzda bir konjenital GİST olgusu dışında hastaların tanı yaşı orta ileri olup ortalama yaş 53.8'dir. Bu demografik veriler diğer seriler ile benzerlik göstermektedir. Serimizdeki lokalizasyona göre olgular en sık literatürde de belirtildiği gibi mide (n=38), ince barsak (n=36), kolon (n=15), mezenter (n=11) olarak sıralanmıştır [1, 61, 79]. Literatürde nadir de olsa bulunan özefagus, safra kesesi, ve pankreas yerleşimli olgular bizim serimizde yer almamaktadır [12, 87-88]. Olguların lokalizasyona göre dağılımı tablo 4 ve 5'de verilmiştir.

Gastrointestinal stromal tümör tanısı konulan bir olguda cevaplanması gereken en önemli soru nasıl bir klinik davranış sergileyeceğidir. Araştırmacılar bu neoplazmların tümünün malignite potansiyeline sahip oldukları ve malign potansiyeli ön görmede patoloğun önemli bir rolü olduğu vurgulanmıştır [1, 2]. Sadece morfolojik verilerle biyolojik davranışın belirlenmesi bazen oldukça zor olmaktadır. Literatürde bu yönde yapılmış çalışmalar oldukça fazladır. Prognozun belirlenmesi için üzerinde durulması gereken en önemli özellikler; tümörün çapı ve mitoz sayısıdır. Ancak bu parametrelerinde tümörün lokalizasyonuna göre yorumlanması önemlidir. Araştırmacıların önerdiği farklı değerler olsada genel olarak agresif klinik seyir için belirtilen kriterler tümör çapının 5 cm ve mitoz sayısının 5/10BBA'nın üzerinde olmasıdır [9]. GİST'in klinik davranışını öngörmek için makroskopik ve mikroskopik bulgular iyi değerlendirilmelidir. Tümör çapı, mitotik indeks, hasta yaşı ve tümör lokalizasyonu tümörün klinik davranışını tahmin etmekte kullanılacak en iyi parametrelerdir [1]. Bazı otörlere göre tümör çapı ve mitotik indeks uzun dönem davranışı tahmin etmek için yeterli değildir [89].

GİST'in anatomik yerleşimlerinin prognozla ilgisi olduğunu gösteren bazı çalışmalar mevcuttur [11, 89-92]. Buna göre aynı büyüklükteki gastrik ve ince barsak GİST'leri karşılaştırıldığında gastrik GİST'lerin daha iyi prognozlu olduğu öne sürülmüştür. Özellikle tümör çapı 5 cm in üzerinde olan ve düşük mitotik indeksi olanlarda bu daha belirgindir. Ancak yakın zamanda yapılan 1765 GİST vakasından oluşan geniş çaplı bir çalışmada bu bulgu desteklenmemiştir [7]. Bizim çalışmamızda ise olgular mide, ince barsak, kolon ve mezenter olarak ayrıldığında mide lokalizasyonlu tümörler %23.8 oranında metastaz yaparken bu oran ince barsak, kolon ve mezenter için

sırasıyla %66.7, %100 ve %85.7 olarak bulunmuştur. 6 ay ve üzerinde takibi olan bu 60 olgu mide-ince barsak ve kolon-mezenter olarak iki gruba ayrıldığında metastaz oranları sırasıyla %46 ve %92 olarak bulunmuştur. Ki-67 indeksi ile lokalizasyon arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p=0,07$, Ki-kare). Literatürde daha geniş kapsamlı yapılan çalışmalarda ise bu bulgumuz desteklenmemiştir. Bizim çalışmamızda olguların histolojik skorları ile lokalizasyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Serimizde mevcut olmayan özefagial tümörlerin ise en iyi prognoza sahip oldukları düşünülmektedir. Serimizde bu lokalizasyon saptanmadığından bu durumla ilgili yorum yapılamamıştır. Ancak özefagial tümörler klinik olarak daha erken semptom verip daha küçük çaplarda tespit ediliyor olabileceğinden benign klinik gidiş saptanıyor olabilir.

Hücre sel yoğunluğunun (selülarite), biyolojik davranışı belirlemedeki rolüne ilişkin literatürde çelişkili sonuçlar vardır. İnce barsak tümörlerinde olumsuz parametre olarak görülen selülarite ile ilgili olarak kolon tümörlerinde benzer ilişki gösterilememiştir [91, 93-95]. Selülarite değerlendirmesi subjektif ve örneklemeyle ilgili olduğundan bu parametre geniş kabul görmemiştir. Bizim çalışmamızda da selülarite anlamlı bir prognostik parametre olarak bulunmamıştır. Dolayısıyla artmış hücre sel yoğunluğunun prognozunu belirlemede kullanımının sınırlı olması gerektiğini düşünmekteyiz.

GİST'de %1-2 oranında saptanan pleomorfizm leiomyosarkom ve diğer malign mezenkimal tümörlerde daha belirgindir. Klinik seyri belirlemedeki önemine dair literatürde çelişkili sonuçlar vardır [96]. Bizim çalışmamızda pleomorfizm ile rekürrens/metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).

Diffüz infiltrasyonla karakterize mukozal invazyon kötü prognostik parametre olarak değerlendirilmekte olup [94] bizim vakalarımızda mukozal invazyonla rekürrens/metastaz arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Tümör boyutu tek başına benign ve malign tümör ayırımında kullanılmamalıdır. Çapı > 7 cm olan tümörler daha küçük tümörlere göre daha çok metastaz yaparlar. Ancak %35 vakada <7 cm olup kötü seyreden vakalarda vardır. Ayrıca > 7 cm olup iyi klinik seyir gösteren olgular da mevcuttur. >10 cm çapta olan bütün tümörler metastaz yaparlar. Ancak ince barsak için cut off değeri 5 cm olmalıdır. Daha büyük tümörler

genellikle kötü prognoza sahiptir. Çünkü cerrahi olarak daha zor çıkarılırlar ya da genellikle çevre dokuya invaze olurlar. Bizim çalışmamızda tümör çapının metastazla olan ilişkisi istatistiksel olarak anlamlılık sınırına yakındı ($p=0,069$).

Mitotik aktivite lokalizasyona bağlı olarak değişebilmektedir. Ayrıca mitoz sayısı tümör içinde değişkenlik gösterebilir. Bu nedenle mitoz sayısı bulunan en yüksek alana göre hesaplanmalıdır. Genellikle en selüler alanlarda mitotik aktivite daha yüksektir. Bizim çalışmamızda 53 vakada (%52) 10BBA'da 5 ve üzerinde mitoz sayısı saptanmıştır (Resim1b). Mitoz sayısı ile rekürrens/metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Ki-kare $p<0.001$). Ki-67 proliferasyon indeksi ile mitoz arasında beklenildiği üzere pozitif bir ilişki mevcuttu (Spearman's rho $p=0.000$).

Nekroz varlığı mezenkimal tümörlerde genellikle malignite bulgusu olarak kabul edilmektedir. GİST'lerde de metastaz ya da rekürrens ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttur. Bu nedenle koagülasyon nekrozu önemli bir prognostik parametre olarak değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda koagülasyon nekrozu 57 (%55,9) olguda saptanmıştır. İstatistiksel olarak rekürrens ve metastaz ile anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0.001$). Nekroz ile Ki-67 indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p=0,01$).

Hücre tipi ve gelişim paterni istatistiksel olarak anlamlı prognostik parametre olarak bulunmamış olup bu morfolojik özelliklerin prognoz tayininde minör öneme sahip olduğunu düşünmekteyiz.

Yapılan bazı çalışmalarda gastrointestinal stromal tümörlerin herhangi bir nedenle endoskopi ve laparotomilerde tesadüfen rastlanabildiği gözlenmiştir [9]. GİST' e eşlik eden adrenokortikal adenomu olan bir vaka da literatürde rapor edilmiştir [97]. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda 486 GİST vakasında 518 tümör saptanmıştır. GİST'e %4,5 ile %33 arasında diğer tümörlerin eşlik ettiği görülmüştür ve mide lokalizasyonlu GİST'lerde diğer neoplazmların görülme sıklığı daha fazla olduğu bildirilmektedir. En sık eşlik eden kanserler sıklık sırasına göre gastrointestinal kanserler, lenfoma, lösemi, prostat, meme, böbrek, akciğer, kadın genital ve karsinoid tümörlerdir. Ayrıca malign melanom, kemik sarkomları ve seminomda görülmüştür [98]. Bizim çalışmamızda olguların beşinde ikinci bir neoplazi saptanmıştı. Bunlar paratiroid adenomu, menenjiom, adrenal adenom, hipofiz adenomu ve meme tümörü idi. Bu

vakaların 4'ü mide lokalizasyonlu, paratiroid adenoma mevcut olan bir vaka ise ince barsak lokalizasyonlu idi.

Günümüze dek GİST malignite potansiyelini belirlemek için birçok parametre üzerinde durulmuştur. Morfolojik özellikler göz önünde tutulduğunda tümör çapı ve mitoz en önemli prediktif parametre olarak kabul edilmektedir. Ancak 2 cm'nin altında olan ve düşük mitoz oranı gösteren tümörlerde metastaz yapabilmektedir. Bu nedenle bu parametrelerin bir kesin mi yoksa relatif risk faktörü olup olmadığı tam net değildir. Tümör çapı, mitoz oranı ve tümör nekrozu malign davranışla yakından ilişkilidir [1]. Bütün bu bilgiler ışığında ve bahsettiğimiz tüm bu morfolojik parametreleri göz önüne alan bir skora şeması oluşturduk (Tablo 3) Histolojik skora ile metastaz/rekürrens arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ise rekürrensi öngörmede 7 ve üzeri kesim değerinin anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.001$) Histolojik skorları 7 ve üzerinde olan bireylerin metastaz oranını öngörmede sensitivite %70, spesifite ise %84 olarak bulunmuştur. Histolojik skorlamanın pozitif prediktif değeri %85,7 iken negatif prediktif değeri %68,8 olarak değerlendirilmiştir. Yani ön planda metastaz olup olmayacağını belirlemeyi kolaylaştırmaktadır. Histolojik skora parametreleri içerisinde değerlendirilmesi daha subjektif olan hücresel pleomorfizm ve organoid büyüme paterni çıkarılıp yeni skora yapılmıştır. Ancak yeni skora ile de benzer sonuçlar alınmıştır (Şekil 3). Her iki değerlendirmenin birbirine üstünlüğü bulunamamış her iki değerlendirme de benzer etkinlikte sonuç vermiştir. Bu nedenle bu iki skora sisteminin kullanılmasının pratik ve uygulanabilir olacağını düşünmekteyiz. Bu ihtiyaç daha önce viral hepatitler için ortaya çıkmıştır [99]. Çünkü hangi hastanın nasıl seyredeceği nümerik bir kıyaslama olmaksızın klinikte çok zor olmaktadır. Klinik uygulamada GİST'lerde de benzer ihtiyaç nedeniyle bu histolojik skora sisteminin hastaların tedavi ve prognozlarının değerlendirilmesinde verimliliği artıracaklarını öngörmekteyiz. Literatürde histomorfolojik parametrelerin prognostik önemine yönelik çelişkili sonuçlar mevcuttur. Bu nedenle günümüzde moleküler çalışmalar önem kazanmış ve hatta bu tümörlerin moleküler sınıflamaları yapılmaya çalışılmıştır. Biz bu çalışmamızda morfolojik değerlendirmeyi esas alarak yaptığımız skora sistemi ile istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde ettik. Oluşturduğumuz skora sistemi ile metastatik potansiyeli öngörmede başarılı olduk. Bu skora şemasından bazı subjektif kriterlerin çıkarılıp tekrar değerlendirme yapıldığında yine anlamlı sonuçlar elde ettik. Buda bize bu skora

sisteminin sağlamlılığını göstermiştir. Risk değerlendirmesinin en somut avantajı çok sayıda hastanın taşıdıkları risk açısından birbiri ile kıyaslanmasını kolaylaştırmaktır. Bu konuda bundan sonra yapılacak çalışmalarda daha fazla bilgi birikeceğine ve daha kullanışlı hale geleceğine inanmaktayız. Literatürde bu şekilde skorlama sistemi ile değerlendirilen neoplazmlar mevcut değildir. Daha çok klinikte hasta performansını değerlendirmeye yönelik skorlamalar bulunmaktadır. GİST gibi malign potansiyeli net değerlendirilemeyen bu tür neoplazmlarda skorlama sistemleri faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

Ki-67 antijeni hücre proliferasyonu ile ilişkili insan nükleer antijenidir. Antijenin adı Almanyanın Kiel şehrinden ve hücre plate numarasından gelmektedir. Ki-67 antikoları proliferen olan hücrelerde eksprese olup durağan hücrelerde (Go) bulunmaz Ki-67 nükleer antijeni malign ya da benign hücrelerdeki proliferasyonun G1, S, G2 ve mitoz aşamalarında eksprese olur. Ki-67 proliferasyon indeksi, tümör grade'nin saptanması ve prognozun belirlenmesinde yardımcıdır [100]. Literatürde bahsedildiği gibi Ki-67 proliferasyon indeksinin %10'un üzerinde olması kötü prognostik belirteçtir ancak bazı çalışmalarda bu bulgu desteklenmemiş [101-102] olmakla birlikte diğer bazı çalışmalarda benign ve malign grup arasında Ki-67 işaretleme indeksinin %10'un üzerinde olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer bir çok malign neoplazmda da (akciğer, mide, kolorektal ve meme tümörleri) Ki-67 indeksi prognozla yakından koreledir [103]. Bizim çalışmamızda ise 6 ay ve üzerinde takibi olan 60 olguda Ki-67 ile rekürrens ve/veya metastaz arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p < 0,05$) ve proliferasyon indeksi kademeli olarak arttıkça metastaz potansiyeli artmaktadır. Ki-67 proliferasyon indeksi önemli bir bağımsız prognostik parametre olarak bulunmuştur (Tablo 6). Klinik pratikte Ki-67 proliferasyon indeksinin de kullanılmasının değerli olduğunu düşünmekteyiz.

Çok basamaklı kanser gelişimi sürecinde frajil bölgeler ve bunlarla ilişkili genler karsinogeneze neden olmaktadır [71-73]. FRA3B ve FRA16D, en sık eksprese edilen frajil bölge lokuslarıdır [74-75]. Frajil histidin triad (FHIT) ve WW domain-containing oxidoredüktaz (WWOX) sırasıyla FRA3B ve FRA16D bölgelerinde yer alan tümör süpresör genlerdir [71, 73]. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, sindirim kanalını da içeren tümörlerde frajil bölge ilişkili genlerin önemli rolü olduğunu göstermektedir [56]. Fhit ekspresyon kaybı invaziv tümörlerde kötü prognostik faktörler ile ilişkili

bulunmuştur [76]. Önceki çalışmalarda küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde uzun süre sigara kullanım hikayesi olanlarda bronş epitelinde 3p14.2 alel kaybı sıklıkla gözlenmiştir. Sigara içenlerde Fhit bölgesindeki moleküler alterasyonlar sigaranın indüklediği karsinogeneze erken hedeflerdir [77]. Literatürde Fhit protein ekspresyon kaybı ya da belirgin azalmanın olmasının prognostik değeri ile ilgili çelişkili sonuçlar vardır. Bazı çalışmalarda fhit ekspresyon kaybı olanlarda, olmayanlara göre daha kötü prognoz saptanmışken bazı çalışmalarda ikisi arasında fark anlamlı bulunmamıştır. Akciğerin skuamoz hücreli karsinomu (SCC) ve adenokarsinomunda fhit ekspresyon kaybı daha düşük sağkalım süreleri ile ilişkili olarak bulunmuştur [77]. Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinden özellikle SCC gelişiminde Fhit proteini önemli bir rol oynamaktadır. Fhit kaybının tümör hücrelerinde yüksek proliferasyon ve düşük apoptotik indeks ile korele olduğu ve bağımsız bir kötü prognostik parametre olduğu gösterilmiştir [78]. Mide kanserlerinde fhit protein ekspresyonu invazyon derinliği, lenfatik invazyon, lenf nodu metastazı, karaciğer metastazı ve evreleme ile negatif bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir. İntestinal tip mide kanserlerinde diffüz tipe göre Fhit daha yüksek oranda ekspresyona edilmektedir. Fhit ekspresyonu mide kanserlerinde p53 ekspresyonu ile pozitif ilişkilidir. Fhit ekspresyonunun down regülasyonu hücrelerde apoptoz ve proliferasyon arasındaki dengeyi bozarak gastrik karsinogeneze yol açmaktadır [79]. Fhit ve wwox ekspresyonu prekanseröz serviks lezyonları ve invaziv serviks kanserinde araştırılmış olup kanser hücre dizilerinde bu iki gendeki protein ekspresyonu azalmış ya da kayıp olarak bulunmuştur ve fhit ve wwox ekspresyonundaki değişiklikler bu neoplazinin progresyonunda kritik öneme sahip olduğu vurgulanmıştır [80]. Fhit ekspresyon kaybı HSIL'un invaziv karsinoma progresyon göstergesi olarak kullanılabilir bir marker olduğu gösterilmiştir [81]. Oral kavite skuamoz hücreli kanserlerde Fhit ekspresyon kaybı kötü prognozla ilişkilidir [82]. Dediferansiye kondrosarkomda Fhit ekspresyon değişikliklerinin yüksek dereceli anaplastik sarkom dönüşümünden sorumlu olabileceği gösterilmiştir [83]. Memenin malign filloides tümörlerinde ise yapılan analizlerde Fhit gen ekspresyon kaybı gösterilememiştir [84]. Gastrointestinal stromal tümörlerde ilk kez denemiş olduğumuz fhit protein ekspresyon kaybı saptanan olgularda ise rekürrens ya da metastaz ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcut değildir. Ancak incelediğimiz morfolojik parametrelerden mitoz ve selülarite ile fhit ekspresyon kaybı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. GİST için fhit ve wwox protein ekspresyonunu değerlendirmek için ayrı bir cut off değeri mevcut olup olmadığını araştırdık ancak

anlamlı bir cut off değeri bulunamamıştır. Bu proteinler mezenkimal tümörlerde çok fazla araştırılmamıştır. GİST'de metastaz ve rekürens oranı ile ilişki saptamadık ancak bunun daha sağlıklı değerlendirilmesi için daha geniş seriler ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

1- GİST'in klinik davranışını belirlemede makroskopik, mikroskopik ve mümkünse immünohistokimyasal ve moleküler özellikler iyi değerlendirilmelidir. Bunun yanında iyi yapılacak olan histomorfolojik değerlendirme ile de klinik gidiş tahmin edilebilir.

2- Prognozu belirleyen en önemli faktör tümörün evresidir.

3-Tümör çapı, mitoz oranı, hasta yaşı ve tümör lokalizasyonu bilinen en iyi prognostik parametrelerdir. Birkaç kötü prognostik parametre hep birlikte görüldüğünden bunlar arasından agresif seyir açısından en değerli prediktif parametreye karar verilememiştir.

4- Olgularımızın literatürle uyumlu olarak %37,3 ü mide, %35,3 ince barsak, %14,7'si kolon, %10,8'i mezenter ve omentum yerleşimli olduğu saptanmıştır.

5- Tümör lokalizasyonu mide-ince barsak ve kolon-mezenter olarak iki gruba ayrıldığında metastaz oranları sırasıyla %46 ve %92 olarak bulunmuştur.

6- Histomorfolojik olarak hücre tipi, tümörün gelişim paterni, selülarite ve plemorfizm istatistiksel olarak anlamlı prognostik parametre olarak saptanmamıştır ($p>0.05$).

7- Histomorfolojik parametreler kullanarak bir skora şeması oluşturulmuştur. Bu şemaya göre histolojik skorların, 6 ay ve üzerinde takibi olan 60 olguda, rekürrens olan ve olmayan bireyler arasında farklı seyrettiği görülmüştür (Şekil 2).

8- Bu histolojik skorlamada rekürrensi öngörmede 7 ve üzeri kesim değerinin anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Histolojik skorları 7 ve üzerinde olan bireylerin metastaz oranını öngörmede sensitivite %70, spesifite ise %84 olarak bulunmuştur. Histolojik skorlamanın pozitif prediktif değeri %85,7 iken negatif prediktif değeri %68,8 olarak değerlendirilmiştir.

9- Kullandığımız histomorfolojik skora şeması sistemi ile olguların prognoz tayini sayısal olarak daha sağlıklı yapılabilir. Bu şemanın güncel kullanımı için daha ileri ve geniş çaplı araştırmalar gerekmektedir.

10- GİST'e bazı başka neoplazmlar da eşlik edebilmektedir. Bizim serimizde olguların beşinde ikinci bir neoplazi saptanmıştır. Bunlar; paratiroid adenomu, menenjiom, adrenokortikal adenom, hipofiz adenomu ve meme tümörüdür. Bu vakaların 4'ü mide

lokalizasyonlu olup paratiroid adenomu mevcut olan bir vakanın ise ince barsak lokalizasyonlu olduğu tespit edilmiştir. Özellikle mide lokalizasyonlu hastaların geniş ve sistematik olarak incelenmesi gerekmektedir.

11- İmmünohistokimyasal olarak tümörlerin %27,5'inde fhit protein, %22'sinde değişen derecelerde wwox ekspresyon kaybı saptanmıştır. Fakat bu kayıp olumsuz prognostik parametre olarak anlamlı bulunmamıştır.

12- Ki-67 proliferasyon indeksinin kademeli olarak artışı malign potansiyelin de artışı ile koreledir. Özellikle proliferasyon indeksinin %10'nun üzerine çıkması halinde metastaz oranı %100 olarak tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Fletcher, C.D., et al., *Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A consensus approach*. Hum Pathol, 2002. **33**(5): p. 459-65.
2. Berman, J. and T.J. O'Leary, *Gastrointestinal stromal tumor workshop*. Hum Pathol, 2001. **32**(6): p. 578-82.
3. Mazur, M.T. and H.B. Clark, *Gastric stromal tumors. Reappraisal of histogenesis*. Am J Surg Pathol, 1983. **7**(6): p. 507-19.
4. Isozaki, K., et al., *Disturbed intestinal movement, bile reflux to the stomach, and deficiency of c-kit-expressing cells in Ws/Ws mutant rats*. Gastroenterology, 1995. **109**(2): p. 456-64.
5. Hirota, S., et al., *Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors*. Science, 1998. **279**(5350): p. 577-80.
6. Kindblom, L.G., et al., *Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal*. Am J Pathol, 1998. **152**(5): p. 1259-69.
7. Rubin, B.P., *Gastrointestinal stromal tumours: an update*. Histopathology, 2006. **48**(1): p. 83-96.
8. Miettinen, M. and J. Lasota, *Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites*. Semin Diagn Pathol, 2006. **23**(2): p. 70-83.
9. Miettinen, M. and J. Lasota, *Gastrointestinal stromal tumors: review on morphology, molecular pathology, prognosis, and differential diagnosis*. Arch Pathol Lab Med, 2006. **130**(10): p. 1466-78.
10. Nilsson, B., et al., *Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era--a population-based study in western Sweden*. Cancer, 2005. **103**(4): p. 821-9.
11. Miettinen, M., et al., *Esophageal stromal tumors: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 17 cases and comparison with esophageal leiomyomas and leiomyosarcomas*. Am J Surg Pathol, 2000. **24**(2): p. 211-22.
12. Miettinen, M. and L.H. Sobin, *Gastrointestinal stromal tumors in the appendix: a clinicopathologic and immunohistochemical study of four cases*. Am J Surg Pathol, 2001. **25**(11): p. 1433-7.
13. Misdraji, J. and F.M. Graeme-Cook, *Miscellaneous conditions of the appendix*. Semin Diagn Pathol, 2004. **21**(2): p. 151-63.
14. Miettinen, M., et al., *Gastrointestinal stromal tumors/smooth muscle tumors (GISTs) primary in the omentum and mesentery: clinicopathologic and immunohistochemical study of 26 cases*. Am J Surg Pathol, 1999. **23**(9): p. 1109-18.
15. Reith, J.D., et al., *Extragastrointestinal (soft tissue) stromal tumors: an analysis of 48 cases with emphasis on histologic predictors of outcome*. Mod Pathol, 2000. **13**(5): p. 577-85.
16. Trent, J.C. and R.S. Benjamin, *New developments in gastrointestinal stromal tumor*. Curr Opin Oncol, 2006. **18**(4): p. 386-95.
17. Kim, H.C., et al., *Imaging of gastrointestinal stromal tumors*. J Comput Assist Tomogr, 2004. **28**(5): p. 596-604.
18. Gomes, A.L., et al., *Molecular analysis of c-Kit and PDGFRA in GISTs diagnosed by EUS*. Am J Clin Pathol, 2007. **127**(1): p. 89-96.
19. Miettinen, M., et al., *Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the duodenum: a clinicopathologic,*

- immunohistochemical, and molecular genetic study of 167 cases. Am J Surg Pathol, 2003. 27(5): p. 625-41.*
20. Miettinen, M., et al., *Gastrointestinal stromal tumors in patients with neurofibromatosis 1: a clinicopathologic and molecular genetic study of 45 cases. Am J Surg Pathol, 2006. 30(1): p. 90-6.*
 21. Kang, D.Y., et al., *Multiple gastrointestinal stromal tumors: Clinicopathologic and genetic analysis of 12 patients. Am J Surg Pathol, 2007. 31(2): p. 224-32.*
 22. Yantiss, R.K., et al., *Multiple gastrointestinal stromal tumors in type I neurofibromatosis: a pathologic and molecular study. Mod Pathol, 2005. 18(4): p. 475-84.*
 23. Kinoshita, K., et al., *Absence of c-kit gene mutations in gastrointestinal stromal tumours from neurofibromatosis type 1 patients. J Pathol, 2004. 202(1): p. 80-5.*
 24. Takazawa, Y., et al., *Gastrointestinal stromal tumors of neurofibromatosis type I (von Recklinghausen's disease). Am J Surg Pathol, 2005. 29(6): p. 755-63.*
 25. Carney, J.A., *Gastric stromal sarcoma, pulmonary chondroma, and extra-adrenal paraganglioma (Carney Triad): natural history, adrenocortical component, and possible familial occurrence. Mayo Clin Proc, 1999. 74(6): p. 543-52.*
 26. Carney, J.A. and C.A. Stratakis, *Familial paraganglioma and gastric stromal sarcoma: a new syndrome distinct from the Carney triad. Am J Med Genet, 2002. 108(2): p. 132-9.*
 27. Nishida, T., et al., *Familial gastrointestinal stromal tumours with germline mutation of the KIT gene. Nat Genet, 1998. 19(4): p. 323-4.*
 28. Isozaki, K., et al., *Germline-activating mutation in the kinase domain of KIT gene in familial gastrointestinal stromal tumors. Am J Pathol, 2000. 157(5): p. 1581-5.*
 29. Hartmann, K., et al., *Novel germline mutation of KIT associated with familial gastrointestinal stromal tumors and mastocytosis. Gastroenterology, 2005. 129(3): p. 1042-6.*
 30. Li, F.P., et al., *Familial gastrointestinal stromal tumor syndrome: phenotypic and molecular features in a kindred. J Clin Oncol, 2005. 23(12): p. 2735-43.*
 31. Chen, H., et al., *Polyclonal nature of diffuse proliferation of interstitial cells of Cajal in patients with familial and multiple gastrointestinal stromal tumours. Gut, 2002. 51(6): p. 793-6.*
 32. Miettinen, M., J. Lasota, and L.H. Sobin, *Gastrointestinal stromal tumors of the stomach in children and young adults: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 44 cases with long-term follow-up and review of the literature. Am J Surg Pathol, 2005. 29(10): p. 1373-81.*
 33. Prakash, S., et al., *Gastrointestinal stromal tumors in children and young adults: a clinicopathologic, molecular, and genomic study of 15 cases and review of the literature. J Pediatr Hematol Oncol, 2005. 27(4): p. 179-87.*
 34. Maeda, H., et al., *Requirement of c-kit for development of intestinal pacemaker system. Development, 1992. 116(2): p. 369-75.*
 35. Takayama, I., et al., *The interstitial cells of Cajal and a gastroenteric pacemaker system. Arch Histol Cytol, 2002. 65(1): p. 1-26.*
 36. Streutker, C.J., et al., *Interstitial cells of Cajal in health and disease. Part I: normal ICC structure and function with associated motility disorders. Histopathology, 2007. 50(2): p. 176-89.*

37. Kitamura, Y. and S. Hirota, *Kit as a human oncogenic tyrosine kinase*. Cell Mol Life Sci, 2004. **61**(23): p. 2924-31.
38. Corless, C.L., et al., *PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors: frequency, spectrum and in vitro sensitivity to imatinib*. J Clin Oncol, 2005. **23**(23): p. 5357-64.
39. Antonescu, C.R., et al., *Association of KIT exon 9 mutations with nongastric primary site and aggressive behavior: KIT mutation analysis and clinical correlates of 120 gastrointestinal stromal tumors*. Clin Cancer Res, 2003. **9**(9): p. 3329-37.
40. Lux, M.L., et al., *KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors*. Am J Pathol, 2000. **156**(3): p. 791-5.
41. Lasota, J., et al., *Mutations in exons 9 and 13 of KIT gene are rare events in gastrointestinal stromal tumors. A study of 200 cases*. Am J Pathol, 2000. **157**(4): p. 1091-5.
42. Heinrich, M.C., et al., *PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors*. Science, 2003. **299**(5607): p. 708-10.
43. Lasota, J. and M. Miettinen, *KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors (GISTs)*. Semin Diagn Pathol, 2006. **23**(2): p. 91-102.
44. Corless, C.L., J.A. Fletcher, and M.C. Heinrich, *Biology of gastrointestinal stromal tumors*. J Clin Oncol, 2004. **22**(18): p. 3813-25.
45. Lasota, J., et al., *A great majority of GISTs with PDGFRA mutations represent gastric tumors of low or no malignant potential*. Lab Invest, 2004. **84**(7): p. 874-83.
46. Medeiros, F., et al., *KIT-negative gastrointestinal stromal tumors: proof of concept and therapeutic implications*. Am J Surg Pathol, 2004. **28**(7): p. 889-94.
47. Heinrich, M.C., et al., *Molecular correlates of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors*. J Clin Oncol, 2006. **24**(29): p. 4764-74.
48. Lasota, J., et al., *Loss of heterozygosity on chromosome 22q in gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a study on 50 cases*. Lab Invest, 2005. **85**(2): p. 237-47.
49. Assamaki, R., et al., *Array comparative genomic hybridization analysis of chromosomal imbalances and their target genes in gastrointestinal stromal tumors*. Genes Chromosomes Cancer, 2007. **46**(6): p. 564-76.
50. El-Rifai, W., et al., *High-resolution deletion mapping of chromosome 14 in stromal tumors of the gastrointestinal tract suggests two distinct tumor suppressor loci*. Genes Chromosomes Cancer, 2000. **27**(4): p. 387-91.
51. Miettinen, M. and J. Lasota, *KIT (CD117): a review on expression in normal and neoplastic tissues, and mutations and their clinicopathologic correlation*. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2005. **13**(3): p. 205-20.
52. Motegi, A., et al., *PKC theta, a novel immunohistochemical marker for gastrointestinal stromal tumors (GIST), especially useful for identifying KIT-negative tumors*. Pathol Int, 2005. **55**(3): p. 106-12.
53. Blay, P., et al., *Protein kinase C theta is highly expressed in gastrointestinal stromal tumors but not in other mesenchymal neoplasias*. Clin Cancer Res, 2004. **10**(12 Pt 1): p. 4089-95.
54. Duensing, A., et al., *Protein Kinase C theta (PKCtheta) expression and constitutive activation in gastrointestinal stromal tumors (GISTs)*. Cancer Res, 2004. **64**(15): p. 5127-31.

55. West, R.B., et al., *The novel marker, DOG1, is expressed ubiquitously in gastrointestinal stromal tumors irrespective of KIT or PDGFRA mutation status*. Am J Pathol, 2004. **165**(1): p. 107-13.
56. van de Rijn, M., M.R. Hendrickson, and R.V. Rouse, *CD34 expression by gastrointestinal tract stromal tumors*. Hum Pathol, 1994. **25**(8): p. 766-71.
57. Monihan, J.M., N.J. Carr, and L.H. Sobin, *CD34 immunoexpression in stromal tumours of the gastrointestinal tract and in mesenteric fibromatoses*. Histopathology, 1994. **25**(5): p. 469-73.
58. Miettinen, M., M. Virolainen, and R. Maarit Sarlomo, *Gastrointestinal stromal tumors--value of CD34 antigen in their identification and separation from true leiomyomas and schwannomas*. Am J Surg Pathol, 1995. **19**(2): p. 207-16.
59. Pauls, K., et al., *PDGFRA α - and c-kit-mutated gastrointestinal stromal tumours (GISTs) are characterized by distinctive histological and immunohistochemical features*. Histopathology, 2005. **46**(2): p. 166-75.
60. Pauwels, P., et al., *Changing phenotype of gastrointestinal stromal tumours under imatinib mesylate treatment: a potential diagnostic pitfall*. Histopathology, 2005. **47**(1): p. 41-7.
61. Miettinen, M., et al., *Gastrointestinal stromal tumors of the jejunum and ileum: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 906 cases before imatinib with long-term follow-up*. Am J Surg Pathol, 2006. **30**(4): p. 477-89.
62. Sarlomo-Rikala, M., et al., *Patterns of nestin and other intermediate filament expression distinguish between gastrointestinal stromal tumors, leiomyomas and schwannomas*. APMIS, 2002. **110**(6): p. 499-507.
63. Yantiss, R.K., et al., *Gastrointestinal stromal tumor versus intra-abdominal fibromatosis of the bowel wall: a clinically important differential diagnosis*. Am J Surg Pathol, 2000. **24**(7): p. 947-57.
64. Duensing, A., et al., *Mechanisms of oncogenic KIT signal transduction in primary gastrointestinal stromal tumors (GISTs)*. Oncogene, 2004. **23**(22): p. 3999-4006.
65. Rossi, F., et al., *Oncogenic Kit signaling and therapeutic intervention in a mouse model of gastrointestinal stromal tumor*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(34): p. 12843-8.
66. Bhattacharya, B., et al., *Nuclear beta-catenin expression distinguishes deep fibromatosis from other benign and malignant fibroblastic and myofibroblastic lesions*. Am J Surg Pathol, 2005. **29**(5): p. 653-9.
67. Pantanowitz, L., et al., *Inflammatory fibroid polyps of the gastrointestinal tract: evidence for a dendritic cell origin*. Am J Surg Pathol, 2004. **28**(1): p. 107-14.
68. Lawrence, B., et al., *TPM3-ALK and TPM4-ALK oncogenes in inflammatory myofibroblastic tumors*. Am J Pathol, 2000. **157**(2): p. 377-84.
69. Agaimy, A. and P.H. Wunsch, *Follicular dendritic cell tumor of the gastrointestinal tract: Report of a rare neoplasm and literature review*. Pathol Res Pract, 2006. **202**(7): p. 541-8.
70. Yunis, J.J., A.L. Soreng, and A.E. Bowe, *Fragile sites are targets of diverse mutagens and carcinogens*. Oncogene, 1987. **1**(1): p. 59-69.
71. Ohta, M., et al., *The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers*. Cell, 1996. **84**(4): p. 587-97.
72. Tatarelli, C., et al., *Characterization of the human TESTIN gene localized in the FRA7G region at 7q31.2*. Genomics, 2000. **68**(1): p. 1-12.

73. Paige, A.J., et al., *WWOX: a candidate tumor suppressor gene involved in multiple tumor types*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(20): p. 11417-22.
74. Inoue, H., et al., *Sequence of the FRA3B common fragile region: implications for the mechanism of FHIT deletion*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(26): p. 14584-9.
75. Mangelsdorf, M., et al., *Chromosomal fragile site FRA16D and DNA instability in cancer*. Cancer Res, 2000. **60**(6): p. 1683-9.
76. Guler, G., et al., *The fragile genes FHIT and WWOX are inactivated coordinately in invasive breast carcinoma*. Cancer, 2004. **100**(8): p. 1605-14.
77. Woenckhaus, M., et al., *Prognostic value of FHIT, CTNNB1, and MUC1 expression in non-small cell lung cancer*. Hum Pathol, 2008. **39**(1): p. 126-36.
78. Toledo, G., et al., *Loss of FHIT protein expression is related to high proliferation, low apoptosis and worse prognosis in non-small-cell lung cancer*. Mod Pathol, 2004. **17**(4): p. 440-8.
79. Zheng, H., et al., *Low expression of FHIT and PTEN correlates with malignancy of gastric carcinomas: tissue-array findings*. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2007. **15**(4): p. 432-40.
80. Giarnieri, E., et al., *Oncosuppressor proteins of fragile sites are reduced in cervical cancer*. Cancer Lett, 2009.
81. Connolly, D.C., et al., *Loss of fhit expression in invasive cervical carcinomas and intraepithelial lesions associated with invasive disease*. Clin Cancer Res, 2000. **6**(9): p. 3505-10.
82. Guerin, L.A., et al., *Decreased fragile histidine triad gene protein expression is associated with worse prognosis in oral squamous carcinoma*. Arch Pathol Lab Med, 2006. **130**(2): p. 158-64.
83. Ropke, M., et al., *Genetic and epigenetic alterations in tumor progression in a dedifferentiated chondrosarcoma*. Pathol Res Pract, 2003. **199**(6): p. 437-44.
84. Kleer, C.G., et al., *Pathologic, immunohistochemical, and molecular features of benign and malignant phyllodes tumors of the breast*. Mod Pathol, 2001. **14**(3): p. 185-90.
85. Sircar, K., et al., *Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors*. Am J Surg Pathol, 1999. **23**(4): p. 377-89.
86. Christopher, L.J., et al., *Metabolism and disposition of dasatinib after oral administration to humans*. Drug Metab Dispos, 2008. **36**(7): p. 1357-64.
87. Daum, O., et al., *Gastrointestinal stromal tumor of the pancreas: case report with documentation of KIT gene mutation*. Virchows Arch, 2005. **446**(4): p. 470-2.
88. Ortiz-Hidalgo, C., B. de Leon Bojorge, and J. Albores-Saavedra, *Stromal tumor of the gallbladder with phenotype of interstitial cells of Cajal: a previously unrecognized neoplasm*. Am J Surg Pathol, 2000. **24**(10): p. 1420-3.
89. Emory, T.S., et al., *Prognosis of gastrointestinal smooth-muscle (stromal) tumors: dependence on anatomic site*. Am J Surg Pathol, 1999. **23**(1): p. 82-7.
90. Brainard, J.A. and J.R. Goldblum, *Stromal tumors of the jejunum and ileum: a clinicopathologic study of 39 cases*. Am J Surg Pathol, 1997. **21**(4): p. 407-16.
91. Ueyama, T., et al., *A clinicopathologic and immunohistochemical study of gastrointestinal stromal tumors*. Cancer, 1992. **69**(4): p. 947-55.
92. Appelman, H. and E.B. Helwig, *Cellular leiomyomas of the stomach in 49 patients*. Arch Pathol Lab Med, 1977. **101**(7): p. 373-7.

93. McGrath, P.C., et al., *Gastrointestinal sarcomas. Analysis of prognostic factors*. Ann Surg, 1987. **206**(6): p. 706-10.
94. Tworek, J.A., et al., *Stromal tumors of the jejunum and ileum*. Mod Pathol, 1997. **10**(3): p. 200-9.
95. Franquemont, D.W. and H.F. Frierson, Jr., *Proliferating cell nuclear antigen immunoreactivity and prognosis of gastrointestinal stromal tumors*. Mod Pathol, 1995. **8**(5): p. 473-7.
96. Miettinen, M., et al., *Evaluation of malignancy and prognosis of gastrointestinal stromal tumors: a review*. Hum Pathol, 2002. **33**(5): p. 478-83.
97. Kimura, M., et al., *[A case of adrenocortical adenoma coexisting with gastrointestinal stromal tumor]*. Hinyokika Kiyo, 2007. **53**(8): p. 551-5.
98. Agaimy, A., et al., *Occurrence of other malignancies in patients with gastrointestinal stromal tumors*. Semin Diagn Pathol, 2006. **23**(2): p. 120-9.
99. Ishak, K., et al., *Histological grading and staging of chronic hepatitis*. J Hepatol, 1995. **22**(6): p. 696-9.
100. Gerdes, J., et al., *Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67*. Am J Pathol, 1991. **138**(4): p. 867-73.
101. Panizo-Santos, A., et al., *Predicting Metastatic Risk of Gastrointestinal Stromal Tumors: Role of Cell Proliferation and Cell Cycle Regulatory Proteins*. Int J Surg Pathol, 2000. **8**(2): p. 133-144.
102. Rudolph, P., et al., *Immunophenotype, proliferation, DNA ploidy, and biological behavior of gastrointestinal stromal tumors: a multivariate clinicopathologic study*. Hum Pathol, 1998. **29**(8): p. 791-800.
103. Wang, X., et al., *Helpful parameter for malignant potential of gastrointestinal stromal tumors (GIST)*. Jpn J Clin Oncol, 2002. **32**(9): p. 347-51.