

**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GASTROİNTESTİNAL STROMAL TÜMÖRLERDE PKC $\theta$ ' NİN  
TANISAL DEĞERİ VE HİSTOMORFOLOJİK BULGULARLA  
KARŞILAŞTIRILDIĞINDA p16 VE E2F1'İN PROGNOSTİK  
ÖNEMİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Arzu YILDIRIM**

**SAMSUN-2009**

**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GASTROİNTESTİNAL STROMAL TÜMÖRLERDE PKC $\theta$ ' NİN  
TANISAL DEĞERİ VE HİSTOMORFOLOJİK BULGULARLA  
KARŞILAŞTIRILDIĞINDA p16 VE E2F1'İN PROGNOSTİK  
ÖNEMİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Arzu YILDIRIM**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Bilge CAN MEYDAN**

**SAMSUN-2009**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde katkıları olan değerli hocalarıma, birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım asistan arkadaşlarıma, tüm Patoloji bölümü çalışanlarına, istatistiksel analiz aşamasında yardımcı olan Dr. Özlem Terzi'ye ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan sevgili aileme çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VII
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
GEREÇ VE YÖNTEM	17
BULGULAR	22
TARTIŞMA	36
SONUÇLAR	44
KAYNAKLAR	45



## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo I.</b> Agresif klinik seyir açısından belirlenmiş risk kategorileri	13
<b>Tablo II.</b> İmmunohistokimyasal çalışmada kullanılan primer antikorlar	19
<b>Tablo III.</b> Olguların klinik özellikleri	23
<b>Tablo IV.</b> Lokalizasyonlara göre histomorfolojik bulgular	24
<b>Tablo V.</b> Lokalizasyona göre risk gruplarının dağılımı	25
<b>Tablo VI.</b> Risk gruplarına göre histomorfolojik bulguların dağılımı	27
<b>Tablo VII.</b> Lokalizasyona göre immünhistokimya boyanmaları	28
<b>Tablo VIII.</b> Risk gruplarına göre p16 boyanması	30
<b>Tablo IX.</b> İstatistiksel olarak anlamlı morfolojik bulgulara göre p16 boyanması	31
<b>Tablo X.</b> Risk gruplarına göre E2F1 boyanması	31
<b>Tablo XI.</b> İstatistiksel olarak anlamlı morfolojik bulgulara göre E2F1 boyanması	32

## ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Şekil 1.</b> CDKN2A tümör süpresyon yolağı	15
<b>Şekil 2 a-b.</b> İnce bağırsak yerleşimli GİST ve leiomyom	34
<b>Şekil 3.</b> Mukozal invazyon gözlenen, epiteloid hücre morfolojisinde GİST	34
<b>Şekil 4.</b> İğsi hücre tipinde, palizatlanma paterninin izlendiği GİST	34
<b>Şekil 5.</b> Miksoid zeminde epiteloid hücre tipinde GİST	34
<b>Şekil 6.</b> Mide yerleşimli GİST' de paranükleer vakuol	34
<b>Şekil 7.</b> GİST'de diffüz CD117 pozitifliği	35
<b>Şekil 8.</b> GİST'de PKCθ ekspresyonu	35
<b>Şekil 9.</b> GİST'lerin CD117,CD34,PKCθ immun belirleyicileri ile boyanma durumu	29
<b>Şekil 10 a-b.</b> GİST'de p16 ekspresyonu	35
<b>Şekil 11 a-b.</b> GİST'de E2F1 ekspresyonu	35

## ÖZET

**Amaç:** Gastrointestinal stromal tümörler, gastrointestinal kanal, mezenter ve omentum kökenli, karakteristik histolojik özelliklere sahip, immünohistokimyasal olarak CD117 (c-kit) pozitif boyanan mezenkimal tümörlerdir. GİST'lerin klinik ve morfolojik özellikleri yeniden değerlendirilerek, bu özelliklerin NIH' in önerdiği histomorfolojik risk kategorisine göre dağılımını incelemek, immünohistokimyasal yöntemle PKCθ' nın tanısal değerini test etmek, p16 ve E2F1'in prognostik önemini araştırmak amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, 1990-2009 yılları arasında tanı almış 57 gastrointestinal stromal tümör olgusu çalışmaya alındı. Klinik veriler hasta dosyaları, klinik doktoru ve telefon ile hastalara ulaşılarak derlendi. H&E kesitleri yeniden değerlendirilerek lokalizasyon, çap, gelişim paterni, mukozal invazyon varlığı, hücre tipi, hücresel yoğunluk, pleomorfizm, nekroz, mitoz, lenfositik hücre infiltrasyonu, miksoid stroma varlığı gibi morfolojik bulguların risk gruplarına dağılımı incelendi. Uygun bloklar seçilerek, CD117, CD34, SMA, S-100 protein, desmin, PKCθ, p16 ve E2F1 immünohistokimyasal çalışma yapıldı.

**Bulgular:** Olgular, yaşları 31 ile 85 yaş arasında değişen 29 kadın ve 28 erkekten oluşmaktaydı. Tümörlerin, 1'i özefagus, 29'u mide, 19'u ince barsak, 4'ü kolon/rektum, 4'ü omentum/mezenter yerleşimliydi. Tümörlerde, CD117 pozitifliği %96,5, CD34 %77,2, SMA %66,7, S100 %38,6, desmin ise %29,8 idi. Risk sınıflaması yapılan 54 olgudan, 12'si düşük risk, 13'ü orta risk, 29'u ise yüksek risk grubundaydı. PKCθ tanısal duyarlılığı %70,2 bulundu. Düşük risk grubundaki tümörlerde, p16 boyanma kaybı daha az oranda iken, risk grubu artıkça boyanma kaybı daha belirgin hale gelmekteydi. p16 boyanma kaybı çapı 5cm'den büyük ve nekroz içeren tümörlerde daha yüksek oranda izlendi. E2F1 boyanmasının yüzde ortancası, düşük risk grubunda %1,55 (0-13) iken yüksek risk grubunda %10,1(0-48,6) bulundu. Çapı 5cm'den büyük, mitotik olarak aktif, hücresel yoğunluğu fazla ve nekroz içeren tümörlerde aşırı E2F1 boyanması izlendi.

**Sonuçlar:** GİST' lerin tümünde malignite riski bulunduğu kabul edilmektedir. Bu tümörlerde, çap ve mitoz sayısına göre risk gruplandırması yapılmış olsa da, diğer histomorfolojik parametrelerin de değerlendirilmesi önemli olabilir. PKC $\theta$ , GİST' lerde duyarlılığı yüksek olan bir belirleyicidir. Özgüllüğü ek çalışmalarla test edildiğinde panele eklenmesi diğer kas ve nöronal belirteçlere göre daha faydalı olabilir. p16 boyanma kaybı ve aşırı E2F1 boyanması yüksek risk grubundaki tümörlerde daha fazladır. E2F1 ekspresyonu prognostik belirleyici olarak kullanılabilir, fakat p16 boyanmasının prognostik değeri için takip süreleri uzun ek klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Gastrointestinal stromal tümör, c-kit, PKC $\theta$ , P16, E2F1

## ABSTRACT

**Aim:** Gastrointestinal stromal tumors (GIST) are the mesenchymal tumors characterized by the immunohistochemical expression of CD-117 (c-kit) and originated from gastrointestinal tract, mesentery and omentum. The aim of this study is to analyse the risk group distribution of GISTs according to NIH criteria by re-evaluating the histomorphologic and clinic features, to test the diagnostic value of PKC $\theta$  and to investigate the prognostic significance of p16 and E2F1 expressions.

**Materials and Methods:** 57 cases that were diagnosed as gastrointestinal stromal tumor in the Department of Pathology, Faculty of Medicine, Ondokuz Mayıs University, between 1990 and 2009, were included in the study. Clinical data were collected from patients' records and the clinic doctors. The risk group distribution of morphological findings such as localization, size, growth pattern, mucosal invasion, cell morphology, cellularity, pleomorphism, necrosis, mitotic index, lymphocyte cell infiltration and presence of myxoid stroma were analysed by re-evaluating archival H&E stained slides. Immunohistochemistry with CD117, CD34, SMA, S-100 protein, desmin, PKC $\theta$ , p16 and E2F1 were applied on selected blocks.

**Findings:** A total of 57 cases (29 female, 28 males) ranged from 31 to 85 years. Tumors were located in the oesophagus (n= 1), stomach (n= 29), small intestine (n=19), colon/rectum (n=4) and omentum/mesenter (n=4). CD117, CD34, SMA, S100 and desmin positivity were 96,5%, 77,2%, 66,7%, 38,6% and 29,8% respectively. Twelve of 54 cases were in low-risk group, 13 were in intermediate risk group and 29 were in high-risk group. Diagnostic sensitivity of PKC $\theta$  was 70,2%. The loss of p16 staining was lesser extent in low-risk group tumors. The loss of p16 expression became more pronounced in high risk group. The loss of p16 was more frequent in tumors with necrosis or >5 cm in diameters. The median percentages of E2F1 in the low and high risk group tumors were 1,55% (ranging 0-13) and 10,1% (ranging 0-48,6) respectively. Elevated expression of E2F1 was observed in tumors >5 cm in diameters, with increased cellularity or mitotic activity and with necrosis.

**Results:** It is accepted that all GISTs have risks for malignancy. Although these tumors are classified according to the size and number of mitosis, other histomorphological parameters should be taken into consideration. PKC $\theta$  is a sensitive

diagnostic marker for GISTs. If its specificity are tested by additional studies, it may be more useful than other muscle and neuronal indicators. The loss of p16 and increased E2F1 were more frequent in high- risk group tumors. Expression of E2F1 can be used as prognostic marker, but prognostic interpretation of p16 staining should be supported by additional clinical studies with long- term follow-up.

**Key words:** Gastrointestinal stromal tumor, c-kit, PKC $\theta$ , p16, E2F1

## 1- GİRİŞ ve AMAÇ

Gastrointestinal stromal tümörler (GİST) , gastrointestinal kanalın, karakteristik histolojik özellikleri olan, immünohistokimyasal olarak genellikle CD117 (c-kit) pozitif boyanan ve sıklıkla *KIT* ya da daha nadiren “platelet-derived growth factor receptor alpha” (*PDGFRA*) mutasyonlarına sahip mezenkimal tümörleridir (1). Gastrointestinal kanal (GİK) kökenli en sık görülen mezenkimal tümör olup gastrointestinal sistemin primer tümörlerinin %2'sini oluşturmaktadır (2). GİK boyunca daha çok miyenterik pleksuslarda yer alan, özelleşmiş bir bağı dokusu hücresi olan interstisyel Cajal hücreleri (İCH) veya bu hücrenin de öncüsü olabilecek daha primitif bir mezenkimal hücreden kaynaklanırlar (3). Bu tümörler, gastrointestinal sistem boyunca her yerde görülebilir, fakat en sık görülen lokalizasyonları mide (%50-60) ve ince bağırsaktır (%20- 30). Kolon/rektum'da %10 ve özefagusta %5 oranında görülürler. Morfolojik, immunfenotipik ve genetik olarak GİST'lerden ayırt edilemeyen lezyonlar mezenter, omentum ve retroperiton gibi gastrointestinal kanal dışı lokalizasyonlarda da tarif edilmektedir (3).

GİST'lerin görülme yaşı 10'lu yaşlarla 90'lı yaşlar arasındadır. Nadir konjenital olgular bildirilmekle birlikte, sıklık 4. dekad sonrası artarak 60'lı yaşlarda tepe yaparlar (4). GİST'ler, nadiren nörofibromatozis tip I ile birlikte görülürler. Ayrıca Carney triadının bir işareti de olabilirler. En sık karşılaşılan semptomlar üst abdomen ağrısı (%50-70), gastrointestinal kanama (%20-50) ve abdominal kitledir (%10-20) (4).

Önceleri düz kas veya sinir kılıfı tümörü olarak tanı almış çoğu primer gastrointestinal sistem mezenkimal tümörünün, immunhistokimyasal çalışmalar ve elektron mikroskopik incelemelerle, düz kas veya nöronal diferansiyasyon göstermediği ya da daha sıklıkla her iki yönde de diferansiyasyona sahip olduğu görülmüştür. Bunun üzerine 1983'de ilk kez Mazur ve ark., histogenezleri ve diferansiyasyonları karmaşık olan bu tümörleri, nötr bir terim olan gastrointestinal stromal tümör olarak adlandırmayı önermişlerdir (3, 5, 6). Yine bu dönemde, İCH'lerinde de izlenen CD34 immünoekspresyonu, GİST'lerin çoğunda da izlenmesi nedeniyle tanısız bir belirleyici olarak belirtilmiştir. 1998'de, Hirota ve ark., tümörlerin büyük bir kısmında ortak özellik olabilecek *KIT* protoonkogeninde aktivasyon yapan mutasyon varlığını göstermişlerdir (7, 8). *KIT* gen ürünü, internal tirozin kinaz aktivitesi içeren bir transmembran reseptör proteindir (c-kit). c-kit, büyüme faktörü ve kök hücre faktörü (SCF) için reseptördür. Reseptör-ligand bağlanmasıyla aktive olan internal tirozin kinaz, interstisyel Cajal hücrelerinin de içinde bulunduğu birçok hücre tipinde, intraselüler proteinlerin

fosforilasyonunu sağlayarak proliferasyon, apoptozis, adezyon veya diferansiyasyon gibi pek çok olayın sinyal yolağını aktifler (4). GİST'lerin %80'inde *KIT*'de, %5'inde ise bir başka tirozin kinaz reseptörü olan *PDGFRA*'da mutasyon mevcuttur. % 15 olguda ise *KIT* geninde mutasyon saptanmamıştır (7, 8). c-kit'i işaretleyen CD117 antikoru, hem İÇH kökenini gösteren hem de tanı koyduran bir immün belirleyici olarak kabul edilmiştir.

GİST'lerde tümörü rüptüre etmeden, negatif cerrahi sınırlarla yapılan total cerrahi rezeksiyon en etkin tedavi yöntemidir. Ancak tümör total olarak çıkarıldığı halde, batında lokal tümör rekürrensine sık rastlanmaktadır. Bu tümörler konvansiyonel kemoterapiye iyi cevap vermemektedirler. Tümör radyorezistan olduğu için ve çevre organlar çok hasar göreceği için, radyoterapi de çok nadir kullanılmaktadır (8). 2000 yılından itibaren anrezektabl ya da metastatik GİST'lerde, spesifik olarak tirozin kinaz reseptörünü bloke etmeyi hedefleyen tedavi uygulanmakta ve iyi cevaplar alınmaktadır (8).

Her GİST'in bazı histomorfolojik parametrelerle tahmin edilmeye çalışılan, az ya da çok, bir nüks veya metastaz yapma riski olduğu kabul edilir (9). Dolayısıyla prognoz açısından da nötr bir ifade olan stromal tümör adı benign/malign kavramını içermez. Klinik davranışını belirlemeye yönelik prognostik parametreler de henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. Bu antitenin klinikopatolojik sınıflandırmasına yönelik birçok çalışma mevcuttur. Bazı araştırmacılar bu tümörleri lokalizasyonlarına, bir kısmı biyolojik davranışını belirlediğine inanılan tümör çapı ve mitoz sayısına, bir kısmı hücre tipine ve bir kısmı da immünohistokimyasal (İHK) özelliklerine göre sınıflandırmışlardır (6). GİST'lerde CD117 neredeyse tüm olgularda %90-98 oranında saptanır (5). Genellikle hematopoietik kök hücre ve vasküler endotelial hücrelerde pozitif olan CD34, GİST'lerin %70-80'inde, düz kas aktini (SMA) %20-40'ında, desmin %1-2'sinde ve S-100 protein %5'inde pozitif olarak izlenir (5, 9).

Günümüzde, tümörün en büyük çapı ve mitotik aktivite malign potansiyeli belirlemede en önemli parametreler kabul edilmiştir. Histopatolojik incelemede 50 büyük büyütmede beş ve üstü mitoz malign davranış potansiyelini göstermektedir. Ancak mitotik aktivitesi düşük tümörler arasında da çok az oranda metastaz görülebilmektedir. Bu nedenle düşük mitotik aktivite malign davranış olasılığını tamamen ortadan kaldırmaz. Yine tümör çapının 2 cm'den küçük olması çok büyük olasılıkla benign tümör anlamına gelmektedir. GİST'lerin malign potansiyelini belirlemek için National Institutes of Health (NIH) çap ve mitoz sayısına göre bir sınıflamanın kullanılmasını önermiştir (2). Ancak bu sınıflama cerrahi rezeksiyonla lezyonun tamamının çıkarılmasını gerektirmekte, bu da her



olguda mümkün olmamaktadır. Ayrıca nekroz, hücresel atipi gibi diğer histomorfolojik parametreleri değerlendirmeye almamaktadır.

Protein kinaz C  $\theta$  (PKC $\theta$ ), interstisyel Cajal hücrelerinde selektif olarak eksprese edilen PKC ailesinin üyesi olup GİST'lerde transkripsiyonel olarak ifadesi artan bir serin/treonin kinazdır (10,11). Bu da göstermektedir ki, PKC $\theta$ , GİST'ler için tanısal bir belirleyici ve potansiyel terapötik bir hedef olabilir.

*p16*, tümör süpresör genidir. G<sub>1</sub>/S sınırında bekleyen hücreler üzerinde siklus regülasyonunu sağlar. GİST'lerde p16 boyanma kaybı kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (12, 13 ).

E2F transkripsiyonel ailesi 6 üye içermektedir; (E2F1-6). E2F moleküllerinin birikimini kontrol eden yolağın çeşitli parçalarının bozulması büyüme kontrolünün kaybına ve çeşitli kanserlerin gelişimine yol açar. E2F1, hücrelerin G1 fazından S fazına geçmesini sağlar. E2F1 ekspresyonunun yüksek mitotik aktivite içeren GİST'lerde arttığı gösterilmiş olup, ekspresyonunun bu tümörlerde klinik davranışı öngörmede yararlı bir ek belirleyici olabileceği belirtilmiştir (14).

Bu çalışmada, 1990-2009 yıllarında bölümümüzde tanı almış GİK ve omentum/mezenter kökenli 57 GİST olgusunun klinik, morfolojik ve immünohistokimyasal bulguları yeniden değerlendirilerek immünohistokimyasal olarak PKC $\theta$ 'nın tanısal duyarlılığı, p16 ve E2F1 ekspresyonlarının prognostik öneminin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2- GENEL BİLGİLER

### 2.1- Gastrointestinal Stromal Tümör Tanımı ve Tarihçesi

GİST'ler, gastrointestinal kanalın, karakteristik histolojik özellikleri olan, genellikle c-kit (CD117) pozitif ve *KIT* ya da *PDGFRA* mutasyonları görülebilen mezenkimal tümörleridir (1). Gastrointestinal sistem boyunca her yerde görülebilirler, fakat en sık görülen lokalizasyonları mide (%50-60) ve ince bağırsaktır (%20- 30). Kolon/rektum'da %10 ve özefagusta %5 oranında görülürler. Morfolojik ve immunfenotip olarak GİST'lerden ayırt edilemeyen lezyonlar mezenter, omentum ve retroperiton gibi gastrointestinal kanal dışı lokalizasyonlarda da tarif edilmektedir ( 3).

Önceleri, leiomyom ya da leiomyosarkom tanısı alan tümörlerin, barsak duvarındaki düz kas ya da vasküler kökenli oldukları düşünülmekte iken 1980'li yıllarda hem elektron mikroskop (EM) bulguları hem immünohistokimyasal çalışmalar ile bu neoplazmların diferansiyasyonlarına yönelik bilgiler elde edilmiştir. EM ve immünohistokimyasal çalışmalar sonucunda, 1983'de, Mazur ve ark., stromal tümör ifadesini, sadece hem düz kas hem de nöronal diferansiyasyon göstermeyen indifferansiyel bir neoplazm grubu için genel bir tanım olarak önermişlerdir (6). 1986'da Walker, otonom sinir sistemi pleksus nöronlarına benzer özellikler gösteren hücreler içeren tümörler için, immünohistokimyasal olarak da nöronal boyanma özelliği göstermeleri nedeniyle stromal tümörler başlığı altında ayrı bir grup olarak gastrointestinal otonomik sinir tümörleri (GANT) terimini kullanmıştır (15,16). Günümüzdeki yaklaşım GANT'ın da stromal tümörler içinde yer almasının uygun olduğu yönündedir (17).

1990'ların sonlarına doğru stromal tümörlerde immünohistokimyasal olarak önce CD34 ve daha sonra CD117 ekspresyonunun yüksek oranlarda pozitif bulunması ve bu özelliklerin gastrointestinal kanal duvarında bulunan interstisyel Cajal hücrelerinde de benzer nitelikte olması nedeniyle stromal tümörlerin bu hücrelerden köken alabileceği ileri sürülmüştür (2-6). Gastrointestinal peristaltizmde "pacemaker" görevi olduğu bilinen İCH'nin ultrastrüktürel olarak hem düz kas hem nöronal özellikleri birarada taşıyor olmaları da stromal tümörlerde izleyebildiğimiz hem düz kas hem nöronal diferansiyasyonu açıklamaktadır. Hirato ve ark. 1998'de stromal tümörlerin çoğunda c-kit geninde aktivasyona neden olan bir mutasyonun ortak bir sitogenetik anomali olduğunu bulması da stromal tümörlerin özel bir grup antite olarak tanımlanmasını desteklemiştir (7, 18, 19).

GİST'lerde *KIT* mutasyonları yanısıra *PDGFRA* mutasyonları bildirilmiştir. GİST'lerin %80'inde *KIT*'de, %5'inde ise bir başka tirozin kinaz reseptörü olan *PDGFRA*'da mutasyon mevcuttur. % 15'inde ise *KIT* geninde mutasyon mevcut değildir (7, 8).

## 2.2- Gastrointestinal Stromal Tümörlerde Klinik Özellikler

GİST'ler, spesifik histolojik özellikleri olan primer olarak gastrointestinal sistem ve abdomende yerleşen mezenkimal tümörlerdir ve tüm primer gastrointestinal sistem tümörlerinin %2'sini oluştururlar (2). GİST'ler genellikle 4. dekad sonrasında ve ortalama olarak 60'lı yaşlarda görülür (4). Yapılan bazı olgu serilerinde erkek hasta hakimiyeti görülürken, bazı çalışmalarda ise cinsler arasında eşit dağılım görülmüştür (6,1). GİST'ler, 40 yaş öncesinde nadir rastlanırken çocuklarda daha da nadir olarak görülürler. GİST'ler, tüm gastrointestinal sistem boyunca, en çok midede görülürler (%50-60). İnce bağırsakta %20-30, kalın bağırsakta %10 ve özefagusta %5 oranında yerleşim gösterirler. Morfolojik ve imünofenotip olarak GİST'ler ile aynı özellikteki tümörler, en çok mezenter, omentum ve retroperitonda karşımıza çıkarlar ve tüm GİST'lerin %5'ini oluştururlar (2).

Genellikle uzun süre asemptomatik seyir gösteren bu tümörlerde klinik semptomlar tümörün lokalizasyonu, lümene ya da serozaya doğru gelişimi ve boyutuna göre değişmektedir. GİST'ler, klinik olarak, mide bulantısı, karın ağrısı, karında kitle, anemi ve GİS kanaması gibi spesifik olmayan bulgularla karşımıza çıkarlar (5). 2cm veya daha küçük GİST'ler genellikle asemptomatik olup başka bir sebep yüzünden yapılan araştırma ya da cerrahi müdahale sırasında fark edilirler ve çoğunluğu iyi huyludur. Özefagusta yerleşmiş ise disfaji, mide ve ince bağırsakta yerleşmiş ise gastrointestinal kanama, kolorektal yerleşimli ise alt gastrointestinal sistem kanaması ya da nadiren kolon perforasyonu veya obstrüksiyonu görülebilir (6).

GİST'ler, genellikle multipl peritoneal yayılım ya da karaciğer metastazı yaparlar. Daha nadiren akciğer, retroperiton, cilt altı, adrenal, bölgesel lenf nodülü, kemik ve beyin metastazları bildirilmiştir (1).

Nörofibromatozis tip I ile nadiren ilişkili olabilen GİST'ler, özellikle ailesel olduklarında birden çok sayıdadırlar. Genç bir kadında, malign epitelooid gastrik stromal tümör olması, Carney triadının bir işareti olabilir. Bu sendromda, çok sayıda malign epitelooid gastrik GİST, paraganglioma ve pulmoner kondrom birlikteliği görülür. Çok sayıda malign GİST'e sahip olmalarına rağmen, beklenenden daha iyi prognoza sahiptirler (20).

## **2.3- Gastrointestinal Stromal Tümörlerde Morfolojik Bulgular**

### **2.3.1- Makroskopik Bulgular:**

GİST'ler, soliter ya da multipl olup genellikle iyi sınırlı, lobüle kitle şeklinde, submukozal, intramural veya subserozal yerleşimli tümörlerdir. Küçük tümörler intramural yerleşimlidir. Büyük tümörler ise tüm barsak duvarını tutarak ektramural büyüyebilir. İntraluminal büyüyerek mukozal ülserasyona neden olabilirler. Makroskopik görünümleri değişken olmakla birlikte, genellikle iyi sınırlı nodülerdir. Kesit yüzleri genellikle, koyu pembe, gri- beyaz renkli solid olup, sıklıkla hemoraji, nekroz, miksoid değişiklikler ve dejenerasyona bağlı kanamalı kistik kaviteler içerirler. Kıvamları, küçük ve benign tümörlerde tipik olarak sert, malign tümörlerde daha yumuşak, balık eti niteliğindedir (21, 22, 23).

### **2.3.2- Mikroskopik Bulgular:**

GİST'lerin %70'i iğsi karakterli hücrelerden, %20'si epitelooid hücrelerden oluşmakta olup %10'u ise bu iki hücre tipini birarada içermektedir. İğsi hücreli GİST'lerde, hücreler genelde kısa fasiküller oluşturur. Sitoplazmaları, düz kas tümörlerine göre daha soluk eozinofilik olup sınırları belirsizdir. Çekirdek, düz kas tümörlerine göre ovoid ya da daha küçük, kromatin yapıları ise veziküler karakterdedir. Sıkça palizat ya da girdap yaparlar. Olguların yaklaşık %5'inde özellikle mide yerleşimli benign GİST'lerde paranükleer sitoplazmik vakuoller görülür (24).

Epitelooid GİST'lerde hücreler, yuvarlak-oval çekirdekli olup eozinofilik ya da berrak sitoplazmalıdır. Epitelooid tip tümörler iğsi hücrelilere göre daha sık yuvalanma paterni gösterirler (24).

GİST'lerde pleomorfik sarkom benzeri belirgin nükleer atipi ve multinükleer tümör dev hücreleri genelde nadir olmakla birlikte epitelooid tipte daha sık olmak üzere görülebilir (24).

GİST'lerin lokalizasyonlarına göre bazı özelliklerinin farklılık gösterdiği dikkati çekmektedir. Özefagus yerleşimli GİST'lerin büyük çoğunluğu muskularis eksternada, nadir olarak da submukozada görülür. Tümörlerin çoğu 2 cm'den küçüktür. Özefajiektomi piyeslerinde ve otopsilerde rastlantısal polipoid lezyon olarak saptanırlar. Tümör hücreleri demetler şeklinde düzenlenmiş olup düz kas tümörüne çok benzer görünümündedir (25). Mide yerleşimli GİST'lerin %70-80'i iğsi hücreli, %20-30'u ise epitelooid histolojiye sahiptir (2). Miittinen ve ark.larının (23) çalışmasında ise; %50 iğsi hücreli, %40 epitelooid, %10 mikst tip histoloji tespit edilmiştir. Radyolojik üst GİS incelemeleri sırasında GİST' ler rastlantısal olarak bulunabilirler (26). Schwannomlara benzer belirgin

nükleer palizadlanma sıklıkla izlenir. Paranükleer sitoplazmik vakuoller bulunabilir. EM incelemesinde bu vakuollerin, glikojen ya da müsin içermediği saptanmıştır (23). Miettinen ve ark.ları (23), gastrik leiomyom, leiomyosarkom ve malignite potansiyeli belirsiz stromal veya düz kas hücreli tümör tanısı almış 1869 gastrik orijinli tümörü tekrar gözden geçirmişler ve bunlardan 1765'ini gastrik GİST olarak kabul etmişlerdir. Bu çalışmada hastaların %54.4'ü erkek, %44.6'sı kadındır. Yaş aralığı 8-93, ortalama yaş 63'tür. Tümör çapı 0.3-44cm, ortalama çap 6cm'dir. Bu çalışmada gastrik GİST' ler histolojik olarak 8 alt gruba ayrılarak incelenmiştir.

- 1- Sklerozan iğsi hücreli GİST
- 2- Palizadlı ve vakuollü iğsi hücreli GİST
- 3- Hipersellüler iğsi hücreli GİST
- 4- Sarkomatöz iğsi hücreli GİST
- 5- Sinsisyal (paternli) sklerozan epiteloid GİST
- 6- Diskohezif (paternli) epiteloid GİST
- 7- Hipersellüler epiteloid GİST
- 8- Sarkomatöz epiteloid GİST

Bu çalışma sonucunda, sarkomatöz iğsi ve sarkomatöz epiteloid GİST'lerin diğer histolojik alt tiplere göre, sarkomatöz iğsi tipin de sarkomatöz epiteloid GİST'e göre daha kötü prognoz gösterdiklerini belirtmişlerdir. Diğer histolojik alt tipler arasında prognoz açısından belirgin bir fark gözlenmediği ifade edilmiştir (23).

İnce bağırsak ve kolon/rektum yerleşimli GİST'ler çoğunlukla semptomatik olup, kanama ya da intestinal tıkanıklıkla ortaya çıkarlar. Gastrointestinal kanama; mide, kolon ve rektumdan orijin alan GİST' lerde %50'den daha az oranda görülürken, duodenal orijinli olanlarda bu oran %87, ince barsağın diğer kısımlarından orijin alanlarda %64'tür (27). İnce bağırsak yerleşimli GİST'lerin %10-20'sinde skenoid lif olarak tanımlanan PAS (+) ekstrasellüler globüler yapıda hyalen birikimler izlenir (24). Kolon ve rektum orijinli GİST' ler, mide ve ince bağırsak orijinli olanlar ile karşılaştırıldığında daha seyrek lokalizasyonlardır ve tüm kolorektal kanserlerin sadece %0,1'ini oluştururlar. Mide yerleşimli GİST'lere benzer makroskopik ve mikroskopik özellikler içerirler, ancak daha küçük çaplıdır, daha fazla sayıda mitoz içerirler, hücresel pleomorfizm daha belirgindir ve bu tümörlerde nekroz görülme oranı daha fazladır (23).

GİST' lerin rektumda kolondan çok daha az görülmesine karşın, büyük çoğunluğunun malign ve iğsi hücreli olduğu bildirilmiştir (22).

#### 2.4- Gastrointestinal Stromal Tümörler ve c-kit

*c-kit*, 4. kromozomun uzun kolunda 11-21 lokusunda yer alan bir proto-onkogendir. Ürünü olan KİT protein, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir transmembran büyüme faktörü reseptörüdür. Steel faktör (mast hücre büyüme faktörü) olarak bilinen bir kök hücre büyüme faktörü ("stem cell factor" *SCF*) olan ligandı 36 kD ağırlığında dimerik formda bir glikoproteindir. Reseptör üç kısımdan oluşur; ekstrasellüler kısmı ligand ile bağlanırken, intrasellüler kısmında ligand bağımlı tirozin kinaz aktivitesi taşıyan iki enzimatik bölge (TK1 ve TK2) bulunur, ayrıca reseptörün enzimatik aktivitesini düzenleyen bir jukstamembran (jm) kısım mevcuttur. Fosforile tirozin uçları, hücre içi sinyal iletiminde görev alan enzim niteliğindeki çeşitli sitoplazmik proteinlerin bağlanma noktasıdır. Böylece proliferasyon, diferansiyasyon, apoptozis, adezyon gibi hayati hücre fonksiyonların kontrolünü yapan hücre içi sinyal ileti yolağının aktivasyonu gerçekleşir (28,29).

Hematopoetik kök hücre, mast hücreleri, melanositler, epidermis bazal tabaka hücreleri, meme ve tükürük bezi duktus epitel hücreleri, renal tüp epitel hücreleri ve interstisyel Cajal hücrelerinde eksprese edilen KİT proteini immünohistokimyasal olarak da reseptörün sitoplazmik kısmını hedefleyen antikorla (CD117) sitoplazmik ve membranöz boyanma şeklinde gösterilebilmektedir. İCH'lerin primitif mezenkimal hücreden diferansiyasyonunda ve barsak duvarındaki fonksiyonel yapılanmasında KİT protein fonksiyonu önemlidir (28,29).

GİST'lerde, ilk kez 1998'de Hirota ve ark., reseptörde ligand bağımsız sürekli aktivasyona "gain-of-function" neden olan somatik *c-kit* mutasyonunu göstermişlerdir (7,8). GİST'lerde izlenen *c-kit* mutasyonlarıyla reseptörün regülatuar bölgesinin (jm kısım) ya da direk enzimatik bölgelerin (TK1-TK2) aktivitesi etkilenir. Çalışmalarda, GİST'lerin % 70-90'ında *c-kit* mutasyonu saptanmıştır. Mutasyon sonucu reseptörün sürekli ligandından bağımsız aktivasyonu ile ortaya çıkan kontrolsüz hücre proliferasyonunun bu tümörlerin patogeneziindeki ilk basamaklardan biri olduğu düşünülmektedir (30, 31, 32).

#### 2.5- Gastrointestinal Stromal Tümörlerin İmmünohistokimyasal Özellikleri

Gastrointestinal stromal tümörlerde tanı ve tedaviye yön vermek amacıyla immünohistokimya paneli gereklidir. Bu panel, CD117(c-kit), CD34, SMA, S-100 protein ve desmin'den oluşur (19).

*c-kit* (CD117) ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak tespiti bu tümörlerde tanı konmasında olduğu kadar patogenezi ve tedavinin yönlendirilmesinde de önemlidir.



CD117 pozitifliğinin, %90 ve üzeri oranlarda saptandığı belirtilmektedir (33). Boyanma sitoplazmadadır ve Golgi bölgesinde noktasal tarzda da saptanabilir (2). GİST'lerde yüksek oranda pozitifliği izlenen ve İCH'de de eksprese olduğu için histogenezisle ilişkilendirilen bir diğer belirleyici de CD34'dür (34,35). CD34, 110 kDa ağırlığında, genellikle embriyonik hematopoetik hücreler tarafından eksprese edilen bir transmembran glikoproteindir. Ayrıca dermis ve yumuşak dokudaki dendritik ve işsi fibroblastik hücrelerde, endotel hücrelerinde, kemik iliğinin stromal hücrelerinin prekürsörlerinde reaksiyon gösterir. Bazı lösemilerde, Kaposi sarkomu ve anjiosarkom, hemanjiyoperisitom gibi vasküler tümörlerde, epitelooid sarkom ve dermatofibrosarkomda da pozitifliği bildirilmiştir (36). CD34'ün GİST'ler için özgülüğü düşük olduğu bilinmekte olup pozitiflik oranı değişen serilerde % 60 - % 80 arasındadır (37,38 ). SMA, intermediyer filament olmayan miyojenik belirleyicidir. Düz kas hücresi ve düz kas kökenli tümörlerde, miyofibroblastlar ve ilişkili neoplastik (fibromatozlar) ve reaktif (nodüler fasiit) olaylarda pozitif olarak bulunurlar (39,40). GİST'lerde, SMA pozitifliği, % 20- 40 oranında olup boyanma genellikle fokaldır (6,41). Desmin, sitoplazmik intermediyer filament proteini olup karakteristik olarak düz kas hücrelerinde, çizgili kas hücrelerinde Z çizgileri ile bağlantılı olarak bulunur ve bunların tümörlerinde saptanır. Desmin, rabdomyom, rabdomyosarkom, leiomyom, leiomyosarkomların çoğunda, desmoid tümörlerin azında ve miyofibromlarda sitoplazmik olarak pozitifdir. Primitif nöroektodermal tümörlerde, epitelooid sarkomlarda, malign periferik sinir kılıfı tümörlerinde, anjiomatoid malign fibröz histiositom ve malign rabdooid tümörde de saptanabilmektedir (42). Desmin ekspresyonunun GİST' lerde nadir olup %5'in altında olduğu belirtilmektedir (43). S-100 proteini, dimerik kalsiyum bağlayıcı proteindir. Schwann hücre yönünde diferansiyasyonu gösterir. Glial elemanlar, nöronlar, kondrositler, melanositler, yağ hücreleri, langerhans histiyositleri, antijen sunan mononükleer hücreler, meme, tükrük bezi ve ter bezinin myoepitel hücreleri S-100 ekspresyonu göstermektedir (42). Nöral diferansiyasyonun araştırılmasında kullanılan S-100 proteini GİST' lerde genellikle negatiftir. Ancak olguların %5'inde pozitiflik görülebilmektedir (6).

## **2.6- Gastrointestinal Stromal Tümörlerde Ayırıcı Tanı**

GİST'lerle ayırıcı tanı grubuna giren mezenkimal tümörler, inflamatuvar fibroid polip, intraabdominal fibromatozis, inflamatuvar myofibroblastik tümör, soliter fibröz tümör, schwannom, leiomyom, leiomyosarkom, malign melanom ve anjiosarkomdur (6,43).

İnflamatuar fibroid polip iyi huylu bir lezyondur. Küçük damarlardan, iğsi şekilli stromal hücrelerden ve inflamatuvar hücrelerden oluşur. Plazma hücreleri, lenfositler ve mast hücrelerinin yanında belirgin eozinofil varlığı dikkati çeker. Histolojik olarak tanı koymada en önemli kriter, eozinofillerle beraber görülen çok sayıdaki vasküler yapılardır. İnce bağırsaktaki tümörler, infiltratif sınırları olan transmural lezyonlar şeklinde görülürken, gastrik lezyonlar submukozaya sınırlıdır. Kolon ve özefagusta yerleşim çok nadirdir. Lezyonların çoğunun CD34 ve SMA pozitif olması nedeniyle, GİST'ler ile ayırıcı tanıda zorluk yaşanır. Tümörün stromal komponenti CD117 ile pozitif boyanmamasına rağmen, içerdiği mast hücreleri pozitif boyanacağından sorun yaşanabilir (6, 43).

İntraabdominal fibromatozis (desmoid tümör), mezenter veya retroperitonda oluşabilen bir tümördür ve stromal tümörü taklit edercesine gastrointestinal sistemin lümenine doğru büyüme gösterebilir. Histolojik olarak iğsi hücrelerden, eşit aralıklı yerleşmiş kan damarlarından ve kollajenöz zeminden oluşur. Kollajen miktarı GİST'lerde gördüğümüzden daha fazladır. İntraabdominal fibromatoziste, mitotik aktivite ile sık karşılaşılırken, hücresele pleomorfizme genelde rastlanmaz. Lokal olarak agresif bir tutum sergilesele de, metastaz yapmazlar ve bu özellik onları GİST'lerden ayırır. İntraabdominal fibromatozis vimentin ve fokal olarak SMA ve nadir olarak da desmin pozitif olup S100 protein ve CD117 negatiftir (1, 6, 20, 43,44).

İnflamatuar myofibroblastik tümörler, lenfosit, plazma hücreleri ve iğsi hücrelerden oluşur. Bu lezyonların bazılarının enfeksiyonlara reaktif cevap olarak oluştuğu düşünülse de, bazılarının klonal olduğu ve nadir de olsa malign davranabileceği gösterilmiştir(6, 20, 43,44). Plazma hücre infiltrasyonunun belirgin olması, inflamatuvar myofibroblastik tümör ihtimalini, özellikle hasta genç ise hemen akla getirmelidir; çünkü birçok GİST 50 yaş üstünde görülürken, inflamatuvar myofibroblastik tümör gençlerde özellikle de çocuklarda görülür. İmmunhistokimyasal olarak, desmin ve SMA pozitifken, CD117 ve CD34 negatiftir (1, 6, 20, 43,44).

Leiomyom ve leiomyosarkom, gastrointestinal sistemde görülmelerine rağmen, GİST'ler kadar sık değildir. Histomorfolojik olarak GİST'lere çok benzerler. Leiomyomlar makroskopik olarak düzgün sınırlı, sert-elastik kıvamlı, pembe beyaz renkli, kesit yüzleri lifsel görünümlüdür. Mikroskopik olarak hafif-orta derecede sellüler olup pleomorfizm göstermeyen, iğsi hücrelerden oluşur. Leiomyosarkomlar, makroskopik olarak yumuşak kıvamlı, gri-beyazdan kırmızı- kahverengiye kadar değişen renklerde dir. Mikroskopik olarak fokal pleomorfizm, yüksek mitoz, nekroz ve tümör dev hücreleri ile atipik mitoz görülebilir. İmmunhistokimyasal olarak, bu tümörler, desmin ve SMA pozitif boyanırken,



CD117 ve CD34 negatiftir. c-kit mutasyonu göstermezler. Leiomyosarkomlar, leiomyomlara göre daha nadirdir ve daha fazla mitotik aktivite gösterirler (20, 21, 25, 43).

Gastrointestinal sistem schwannomları, daha çok mide yerleşimlidirler. Karakteristik olarak, lezyonun periferinde onu saran lenfoid bir agregat mevcuttur. Nükleer palizadlanmanın olduğu "Verocay cisimleri" ve hiyalinize damarlar vücudun diğer bölgelerindeki schwannomlarda sık görülürken, gastrointestinal sistemde görülen schwannomlarda daha nadirdir(6). Bu tümörler S-100 ile kuvvetli ve yaygın bir şekilde nükleer ve sitoplazmik boyanma gösterirken, CD117 ile boyanma göstermezler. Bazı schwannomlarda fokal CD34 pozitifliği görülür (6, 20, 43,44).

Soliter fibröz tümör, iğsi hücreli bir tümördür. Periton boşluğunda yerleşip intestinal duvara tutunabilirler. CD34 ile yaygın ve kuvvetli pozitif boyanma gösterdiklerinden, GİST'ler ile ayırıcı tanısı önemlidir ancak CD117 ile boyanma göstermezler (6, 20, 43,44).

Gastrointestinal sistemin CD117 pozitif olabilen diğer tümörleri melanom ve anjiosarkomdur. Bu tümörlerin kendilerine özgü histolojik ve immunhistokimyasal özellikleri ayırıcı tanıda yardımcı olur (6).

## **2.7- Gastrointestinal Stromal Tümörlerde Prognostik Faktörler**

GİST'lerin biyolojik davranışını tahmin etmek zordur. Hem makroskobik hem de mikroskobik birçok parametre, prognozu belirlemede kullanılmak için önerilmiştir. Bunlar arasında, tümör lokalizasyonu, tümör çapı, gelişim paterni, mukozal invazyon, hücre tipi, hücresel yoğunluk, nekroz, hücresel pleomorfizm, mitoz sayısı, cerrahi ameliyatın sınırları yer almaktadır (45).

Mide ve rektumda yerleşim gösteren GİST'ler, daha küçük boyutlu olurken, kolon ve ince bağırsak yerleşimli tümörler daha büyük çaplı tümörlerdir. Özefagustaki GİST'lerde sitolojik atipi ve mitotik aktiviteye pek rastlanılmaz. Özefagus yerleşimli mezenkimal tümörler daha çok iyi huylu olurken, bu yerleşimli GİST'lerin tanıları konulduğunda ileri evrededirler ve prognozları kötüdür. Mide GİST'leri, en büyük grubu oluştururlar. Benzer çaptaki ve benzer sayıda mitoz içeren ince bağırsak GİST'lerine göre daha iyi prognoz gösterirler. Malign ince bağırsak tümörlerinin oranı %50-64'tür. (6, 45).

Kolon GİST'leri, çok nadirdir ve genellikle kötü prognoz gösterirler. Bugüne kadar rapor edilmiş appendiks vermiformis yerleşimli tüm GİST'ler küçük boyutlu, iyi huylu tümörlerdir ve insidental olarak bulunmuşlardır. Omentum/mezenter yerleşimli GİST'ler, agresif davranış sergilerler (5, 6, 45). GİST tanısı ilk konulduğu sırada, beraberinde periton

veya karaciğer metastazının olması kötü prognoz işareti iken, tesadüfen bulunan küçük serozal tümörler şeklindeki GİST'lerin prognozu daha iyidir (45).

Hücreden fakir tümörlerin iyi prognoza sahip olduğu belirtilir. Hücresel pleomorfizm daha çok agresif tümörlerde görülür. Mukozal invazyon, nadir görülen bir özelliktir ve daha çok malign GİST'lerde görülür (45). Mukozal ülserasyon, mide ve barsak GİST'lerinde daha çok görülür ve tümöre bağlı gastrointestinal kanamayla beraberdir (45). Bazı serilerde, kanama güvenilir bir parametre olmamakla birlikte daha çok agresif tümörlerde görüldüğü, ülserasyonun ise doğrudan prognozla ilişkisinin olmadığı belirtilmiştir (46).

Yapılan pek çok araştırmada Ki-67, p53, bcl-2 ve siklin D1'in prognoz tayinindeki önemi incelenmiştir (47,48). Ki-67, prognoz belirlemede kesin sonuçlar vermese de, proliferasyon belirleyicisi olarak kullanılmaktadır (43). Tamamen gastrik GİST'lerden oluşmuş bir seride, yüksek Ki-67 oranının kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Fakat Ki-67 immün belirleyicisi ile mitoz sayısının belirttiği prognoza göre daha üstün sonuçlar elde edilememiştir (43,47). p53 ile yapılan çalışmalarda tutarlı sonuçlar elde edilememiştir, sonuç olarak p53'ün bağımsız bir prognostik faktör olarak kullanılamayacağı belirtilmiştir (47,48). Siklin D1' in artmış ifadesi iyi prognozla ilişkili olarak gösterilmiştir. Bcl-2 ekspresyonu ise, omentum/mezenter yerleşimli tümörlerde kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (48).

GİST'lerde proliferasyon hücre nükleer antijeni (PCNA) boyanması, tümör boyutu ve mitotik indeksten bağımsız olarak prognoz hakkında bilgi verebileceği belirtilmektedir. Amin ve ark. yaptıkları araştırmada, metastaz saptanan GİST' lerde daha yüksek PCNA indeksi (%43.6) izlenirken, metastazı olmayanlarda bu oran daha düşük (%11.8) olarak bulunmuştur (46). Yu ve ark., yaptıkları çalışmada, %10'un üzerindeki PCNA indeksini kötü klinik gidişle ilişkilendirmiştir (46).

GİST'lerde DNA analizinin prognozdaki önemi araştırılmış ve anöploid tümörlerin kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (46).

2002'de, bu konuyla ilgilenen araştırmacıların katıldığı, ortak görüş raporunda GİST'lerde risk kategorizasyonu yapılması önerilmiştir (2). Tümör çapı ve mitoz sayısı kullanılarak GİST'leri 4 gruba ayıran (çok düşük risk, düşük risk, orta risk, yüksek risk) bir risk kategorizasyon tablosu oluşturulmuştur (2). (Tablo I).

Tablo I: Agresif klinik seyir açısından belirlenmiş risk kategorileri\*

	<b>Tümör Çapı (cm)</b>	<b>Mitoz sayısı</b>
<b>Çok düşük risk grubu</b>	< 2	≤ 5/ 50 BBA
<b>Düşük risk grubu</b>	2- 5	≤ 5/ 50 BBA
<b>Orta risk grubu</b>	≤ 5	6-10/ 50 BBA
	5-10	≤ 5/ 50 BBA
<b>Yüksek risk grubu</b>	>5	>5/ 50 BBA
	>10	Herhangi bir mitoz sayısı
	Herhangi bir boyut	>10/ 50 BBA

\*: Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A consensus approach. Fletcher C, Berman J, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Miettinen M, Rubin B, Weiss S. (Hum Pathol 2002;33:459-465)

## 2.8- Gastrointestinal Stromal Tümörlerde Tedavi

GİST tedavisi cerrahidir. Rezeksiyon sırasındaki ya da öncesindeki tümör rüptürü, kötü prognoz lehine bir bulgudur. Rekürren kitlelerin, peritoneal veya karaciğer metastazlarının eksizyonunun da yaşam süresini arttırdığı belirtilmektedir. Bu tümörlerin radyoterapi ve kemoterapi duyarlılığının az olduğu bilinmektedir (49).

GİST'lerde *c-kit* mutasyonunun belirlenmesiyle, 1999 yılından itibaren, STI-571 (Imatinib mesylate - Glivec®) pre-klinik çalışmalarda denenmeye başlanmıştır (49). STI-571'in ilk önceleri KML tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Daha sonraki çalışmalarla, STI-571'in (Imatinib mesylate – Glivec®) sadece bu hastalığa spesifik olmadığı anlaşılmıştır ve bu maddenin, hücre sinyal sisteminde görevli tirozin kinazlar üzerindeki ATP bağlanma bölgelerinin inhibitörü olduğu gösterilmiştir (4, 49). Japonyada yapılan ilk çalışmalar, hematolojik malignitelerde KİT varlığının gösterilmesiyle, STI-571 (Imatinib mesylate – Glivec®) ile metastazlı GİST'lerde klinik çalışmaların başlatılmasına karar verilmiştir. 2000 yılında, Finlandiya'da ilk GİST hastasına tedavi verilmiştir ve başarılı bir sonuç elde edilmiştir. Günümüzde bu ilaç, CD117 pozitif, rezeke edilemeyen ve/veya metastatik GİST'lerin tedavisinde cerrahi öncesinde veya sonrasında kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, imatinib tedavisi sırasında dirençli klonların gelişebileceği ve buna bağlı nükslerin ortaya çıkabileceği her zaman akılda tutulmalıdır (49).

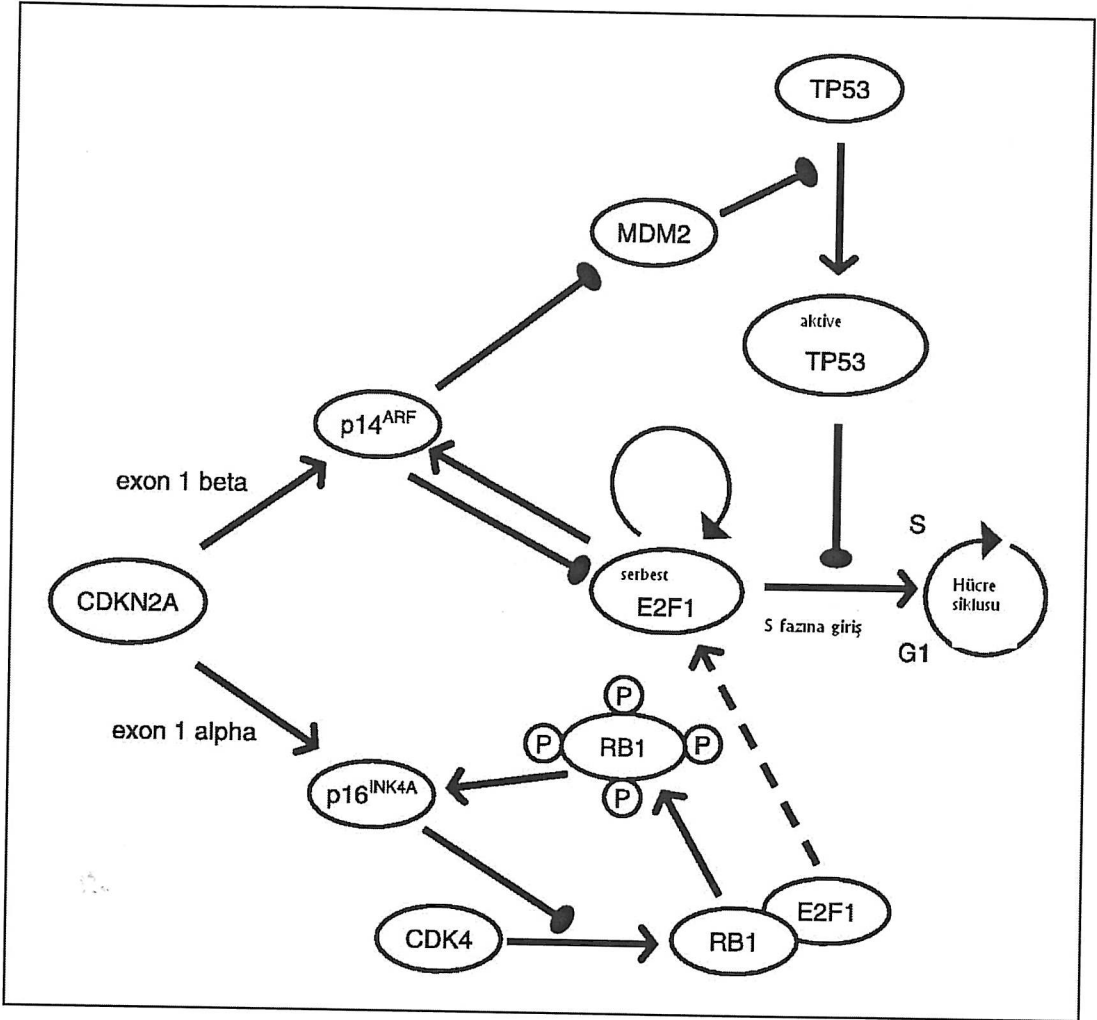
## 2.9- Protein Kinaz C Theta (PKC $\theta$ )

Protein kinaz C'ler, amino terminal regülatör (20-70 kDa) ve karboksi-terminal katalitik (yaklaşık 45 kDa) olmak üzere 2 alan içeren , ağırlıkları 74-90 kDa arasında değişen monomerik proteinlerdir (11). Protein Kinaz C ailesinin enzimleri hücrel diferansiyasyon, proliferasyon ve hücre ölümünde rol oynamaktadır ve birkaç alt aileyi içermektedir: Ca<sup>2+</sup> ve diaçilgliserol bağımlı konvansiyonel PKC (cPKC:  $\alpha$ ,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha$ ), Ca<sup>2+</sup>-bağımsız yeni PKC (nPKC:  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$ ,  $\theta$ ), atipik PKC (aPKC:  $\lambda$ ,  $\zeta$ ) ve PKD (PKC  $\mu$ , V ve PKD2) (50).

PKC $\theta$ , özellikle T hücrelerinde selektif olarak eksprese edilen nPKC alt ailesinin üyesi olup T hücre aktivasyonunda rol oynar ve T hücrelerini apoptozisten korur ( 50, 51). İnterlökin 2 üretimi için de gereklidir. Poole D. ve ark., yaptıkları bir çalışmada interstisyel Cajal hücrelerinde PKC $\theta$ 'nın bulunduğunu göstermişlerdir (52). Bir serin/treonin kinaz olan PKC $\theta$ 'nın, GİST'lerde transkripsiyonel olarak ifadesi artar. KİT veya PDGFRA mutasyonel durumlarına bakılmaksızın GİST'lerin çoğunda sitoplazmik olarak güçlü bir şekilde eksprese edilirken leiomyosarkom ve desmoid tümör gibi histomorfolojik olarak GİST'e benzeyebilen diğer tümörlerde ise ekspresyonunun olmadığı belirtilmiştir (53). PKC $\theta$ 'nın, GİST'ler için özgül ve duyarlı bir moleküler belirleyici olabileceği ve buna karşı geliştirebilecek hedef molekül tedavisi için bir aday olabileceği belirtilmektedir (53).

## 2.10- p16

Hücre döngüsünün en önemli kontrol basamaklarından biri G1'den S fazına geçiştir. Bu basamakta siklin/siklin bağımlı kinaz (S/SBK) komplekslerinin oluşması ya da oluşmaması döngünün devamı ya da durması için esastır. S/SBK komplekslerini bloke eden tümör baskılayıcı genlerden biri *CDKN2A* (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A)'dır ve lokusunda iki ayrı gen vardır: *p16* (INK4A, SBK4 üzerinden etkilidir) ve *p14* (ARF, p53 üzerinden etkilidir). *p16* gen ürünü olan protein, siklin D ile yarışıp siklin D bağımlı kinaz-4 veya 6 ( SBK4/6) ile bağlanarak kompleks oluşturmasını engeller ve böylece RB/E2F1 üzerinden geç G1 fazından S fazına geçişi önler (Şekil 1) (14).



Şekil 1: CDKN2A tümör süpresyon yolağı (Prognostic Role of E2F1 and Members of the CDKN2A Network in Gastrointestinal Stromal Tumors. Haller F., Gunawan B., Heydebreck A., Schwager S. (Clinical Cancer Research 2005;11, 6589-6597)

9. kromozom kısa kolunun 21 lokusunda (9p21) yer alan *p16*, bir tümör baskılayıcı genidir (55). Bazı tümörlerde homozigot delesyon veya nokta mutasyonlarla ya da bu genin başlatıcı bölgesinin “promoter” *denovo* hipermetilasyonu ile inaktive olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla *p16* fonksiyon kaybı, düzensiz hücre proliferasyonu ve kanser progresyonundan sorumlu tutulabilir (54, 55).

Literatürde GİST’lerde *p16* protein ekspresyonu ve bunun prognostik önemini araştıran az sayıda çalışma mevcuttur (56,57). Sabah M.ve ark., 23 olguluk serilerinde *p16* protein ekspresyon kaybını yüksek risk grubu GİST’lerle ilişkilendirmişlerdir (57). Schneider SR. ve ark., 284 GİST olgusundan oluşan çalışmalarında, tümörlerin % 50’sinde *p16* kaybı saptamış ve bu olguların, *p16* pozitif olanlara göre daha kötü prognoza sahip olduğunu belirtmişlerdir (56). Tam aksine, 101 GİST olgusundan oluşan bir

çalışmada ise, p16 pozitifliği için farklı eşik değerleri verilerek p16'nın risk grupları ile korelasyonuna bakılmış ve %50' nin üzeri pozitif kabul edildiğinde, p16 pozitiflik oranının yüksek risk grubunda daha fazla olduğu belirtilmiştir (58). Haller F ve ark. ise 38 GİST olgusundan 25'inde (%66) izledikleri p16 immünekspresyon kaybının yüksek mitoz ve histomorfolojik yüksek risk grubu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (14).

### **2.11- E2F1**

Retinoblastom- E2F (Rb-E2F1), sinyal yolu hücre döngüsünün ve diferansiyasyonunun önemli bir regülatörüdür ve disfonksiyonu onkogeneze yol açabilmektedir. E2F'ler Rb proteininin temel hücre hedefleridir. Rb-E2F kompleksi, Rb fosforillene kadar hücreleri G1 fazında tutar. Fosforillenen Rb, E2F'leri kompleksten serbestleştirir, bu şekilde aktifleşen E2F'ler, hücreleri S fazına sokan genlerin transkripsiyonunu aktive ederler(59). E2F transkripsiyonel ailesi 6 üye içermektedir; (E2F1-6). E2F gen ailesinin hücre döngüsünün regülasyonunda multipl fonksiyonları olduğu bulunmuştur. E2F moleküllerinin birikimini kontrol eden yolağın çeşitli parçalarının bozulması büyüme kontrolünün kaybına ve çeşitli kanserlerin gelişimine yol açar (59). Örneğin, E2F1 'in tiroid(59) ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında rol oynadığı (14), ekspresyonunun adriamisin veya etoposid tedavisi sonrası medulloblastom, gliom, akciğer, kolon ve mesane kanserlerini indüklediği gösterilmiştir (60). Haller ve ark.'ının(14) yaptıkları, GİST'lerde E2F1'in, yüksek mRNA ile protein ekspresyonu ve yüksek mitotik aktivite ile anlamlı olarak ilişkili olduğu gösterilen çalışmada, E2F1 ekspresyonunun GİST prognozunu belirlemede yararlı bir ek belirleyici olabileceği bildirilmiştir. Sabah M.ve ark. (57) yaptıkları çalışmada malign GİST' lerede E2F1 'in nükleer pozitiflik oranını daha fazla bulmuşlar ve bunu agresif davranışla ilişkilendirmişlerdir.

### 3- GEREÇ VE YÖNTEM

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1990-2009 yılları arasında gastrointestinal kanal, omentum ve mezenterden köken almış, 69 mezenkimal tümör değerlendirmeye alındı. Altı olgu parafin bloklarda yeterli doku olmaması nedeniyle çalışmadan çıkarıldı. Histomorfolojik özellikleri gastrointestinal stromal tümörle uyumlu 63 olgu CD117, CD34, SMA, S100, desmin, PKC $\theta$ , p16 ve E2F1 ile immünohistokimyasal olarak boyandı. CD117 ve /veya CD34 pozitifliği saptanan 57 olgu gastrointestinal stromal tümör kabul edilip çalışmaya alındı. Çalışmaya alınmayan dört olgu leiomyom, bir olgu leiomyosarkom, bir olgu ise pleomorfik sarkom olarak değerlendirildi. Çalışmamıza ayrıca ameliyat spesmenlerinde insidental olarak tespit edilmiş (sıklıkla özefagus ve rektum kökenli, submukozal ya da serozal yerleşimli) çapları 1cm' i aşmayan diffüz desmin ve SMA pozitifliği gösteren tipik leiomyomlar da alınmadı.

Olgularla ilgili değerlendirme kapsamına aldığımız demografik veriler, tanı anında metastaz varlığı, neoplazinin organa sınırlı olması ya da komşu organlara invazyon varlığı, peritoneal implantların varlığı, ameliyat şekli (sadece tümöral eksizyon ya da geniş organ rezeksiyonu) ve tümör lokalizasyonu hasta dosyalarından derlendi. Lokalizasyon, metastatik lenf nodu varlığı, tümör çapı, cerrahi sınırların intakt olup olmaması hastaya ait hematoksilin-eozin boyalı preparatlar yeniden değerlendirilerek teyid edildi. Yeniden değerlendirilmeye alınan tümörlere ait arşiv preparatlarının sayısı olgu başına 1 ile 25 arasında değişmekte olup ortalama 8 idi. Çalışmaya alınan 57 olgunun 45'inde ulaşılabilen klinik takipler 1 ile 135 ay arasında değişmekte idi.

Tümörlerin gelişim paterni, mukozal invazyon varlığı, hücre tipi, hücresel yoğunluk, hücresel pleomorfizm, nekroz varlığı, mitoz sayısı yeniden değerlendirildi. Ayrıca girdap, "organoid" veya "palizatlanma" gibi belirgin doku paternleri olup olmaması, paranükleer vakuol ya da skenoid lif gibi bu tümörlerde tariflenmiş bazı özel morfolojik bulgular ve belirgin lenfositik infiltrasyon varlığı, miksoid stroma varlığı ve multinükleer tümör dev hücre içerip içermemesi araştırılarak not edildi (45).

Tümör, kısa fasiküller şeklinde düzenlenim gösteren oval çekirdekli iğsi hücrelerden oluştuğunda-iğsi, yuvarlak nükleuslu, geniş berrak veya eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden oluştuğunda- epiteloid, hem iğsi hem epiteloid alanları ayrı ayrı içerdiğinde ise mikst hücre tipi olarak değerlendirildi. Tümör hücrelerinin tek tek ya da sıklıkla gruplar halinde muskularis propriayı ya da çevre serozal dokuyu ayırır tarzda gelişmiş olmaları



“infiltratif gelişim paterni” olarak değerlendirilirken tümör ve çevre doku arasında iyi bir sınır olması “ekspansil gelişim paterni” kabul edildi. Hücresel yoğunluk az ya da çok yoğun şeklinde iki değer arasında derecelendirilmiş olup “yoğun selülarite” olarak arada sitoplazmanın az olarak izlenebildiği, nükleer üst üste binmelerin olduğu alanların olup olmaması göz önünde bulunduruldu. Pleomorfizm, yaygınlığa göre izlenmiyorsa 0, tek-tük veya fokal ise 1, yaygın bir bulgu ise 2 olarak derecelendirildi (61). Nekroz varlığı için mukozal ülserasyon alanından uzak koagülasyon nekroz alanları arandı. Mukozal invazyon gastrointestinal organ duvarıyla komşuluğu olan ve mukozayla ilişkisi örneklenmiş 49 olguda değerlendirilebildi, mukozal invazyon kriteri olarak ülserasyon değil tümör hücrelerinin lamina propriada kripler arasında infiltrasyonu esas alındı. Mitoz sayımı, Olympus BX50 ( Olympus CO. Japonya ) ışık mikroskopunda, hücresel yoğunluğun en yüksek olduğu varsa ilk mitozun görüldüğü alandan başlanarak ardışık 50 büyük büyütme alanında (1 BBA:0,223 mm<sup>2</sup>) yapıldı. Fletcher risk grubuna göre olgular çok düşük, düşük, orta ve yüksek olmak üzere 4 risk grubuna ayrıldı (Tablo I). Çok düşük ve düşük risk grubundaki olguların sayısının az olması nedeniyle bu iki grup birleştirilip olgular düşük risk grubu altında toplandı. İstatistiksel aşamada, olgular, tümör boyutuna göre  $\leq 5$ cm ve  $> 5$ cm, mitoz sayısına göre  $\leq 5$  ve  $> 5$  /50BBA olmak üzere iki gruba ayrılarak tekrar incelemeye alındı. 24 aydan fazla takip süresi olan, takip süresi içerisinde rekürrens ve/veya uzak metastaz saptanmayan 15 olgu klinik olarak benign davranış sergileyen grup, GİST’e bağlı ölüm gözlenen, rekürrens görülen, uzak metastaz saptanan veya anrezektabl kitlesi olan 10 olgu ise agresif klinik davranışa sahip grup kabul edildi.

### **3.1- İmmünohistokimyasal Çalışmalar**

Dokuların tümü, %10 ‘luk tamponlanmış nötral formalin solüsyonunda tespit edilmiş ve parafinde bloklanmıştı. İncelenen kesitlerden, tümörü en iyi temsil eden, tercihen non-neoplastik intestinal duvarı da içeren birer blok seçildi. CD117 ve PKC  $\theta$  için antijen geri kazanım aşaması birkaç deneme sonunda netleştirildi. Bu aşamada sitrat tamponu (pH=6) 98 °C’de (Microwave vacuum histoprocessor, Milestone, İtalya) 30 dakika ve 1 saat olarak, etilen diamin tetra asetat (EDTA) (pH=8) 98 °C’de (Microwave vacuum histoprocessor, Milestone, İtalya) 30 dakika olarak denendi. Pozitif iç kontrol olarak mast hücre ve miyenterik pleksusda izlenen Cajal hücre boyanmasının yoğunluğu esas alındığında en iyi yöntemin sitrat tamponu (pH=6) olduğu görüldü ve yöntem olarak seçildi. p16 boyanmasında en iyi dilüsyon oranını ve antijen geri kazanım yöntemini saptamak için çeşitli denemeler yapıldı. p16 immunhistokimya boyası VENTANA (Benchmark LT, Turcson, Arizona, USA) otomatik boyama cihazında yapıldığında en iyi



sonuç alınabildi. Seçilen bloklardan 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak bir gece 55 °C'lik etüvde deparafinize edildi. 20 dakika ksilen, 10 dakika %96'lık alkolde bekletildikten sonra 5'er dakika sırasıyla musluk suyu, distile su ve fosfat tamponu (PBS: phosphate buffer saline, pH:7,6) ile yıkandı. Deparafinize edilen kesitlerin endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 10 dakika inkübe edilerek giderildi. Sadece PKC $\theta$  için kesitler, %0.3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 30 dakika inkübe edildi. Kesitlere, primer antikora göre değişen antijen geri kazanım işlemleri uygulanıp bloke edici solüsyon damlatıldı. 5 dakika beklenilip yıkanmadan primer antikor ile oda ısısında, nemli ortamda inkübe edildi. Bol PBS ile yıkanan kesitler sırasıyla önce biotinli anti-immunglobulin ve sonra streptavidin-peroksidaz konjugat ile 10'ar dakika inkübe edildi. İşlemler arasında kesitler PBS ile iyice yıkandı. Renklendirici ajan olarak 3,3'-diamino benzidin (DAB) kullanıldı. Son aşama olarak zıt boyama Mayer hematoksilen (60 saniye) ile yapıldı. İşlem sırasıyla alkol ve ksilen aşamalarıyla tamamlanıp kesitler lamel ile kapatıldı. p16 haricinde her bir immün belirleyici için tek bir seansta immünhistokimyasal boyama yapıldı. Kullanılan primer antikorlar tablo II'de özetlendi.

Tablo II: İmmunohistokimyasal çalışmada kullanılan primer antikorlar

Primer antikor	Tip; Klon	Dilüsyon	İnkübasyon süresi	Antijen açığa çıkarma işlemi	Firma
CD 117	Poliklonal, tavşan	1/200	1 saat	ST, 30 dk	Neomarkers, USA
CD 34	Monoklonal, fare QBEnd10	1/25	30 dk	ST, 30 dk	DAKO, Denmark
SMA	Monoklonal, fare 1A4	1/50	30 dk	ST, 30 dk	DAKO, Denmark
S100	Poliklonal, tavşan	1/400	30 dk	ST, 30 dk	DAKO, Denmark
Desmin	Monoklonal, fare D33	1/50	30 dk	ST, 30 dk	DAKO, Denmark
PKC $\theta$	“Purified”, fare 27	1/100	2 saat	ST, 20 dk	BD Transduc. Lab., USA
P16	Monoklonal, fare F-12	1/500	1 saat 8 dk VENTAN A	EDTA,30dk	Santa Cruz Biotech.,Europe
E2F1	Monoklonal, fare KH95	1/25	90 dk	ST, 30 dk	Santa Cruz Biotech.,Europe

ST: Sitrat tamponu

### 3.2- İmmunhistokimyasal Değerlendirme

İmmunhistokimyasal değerlendirmede pozitif iç kontrol olarak CD117 için mast hücreleri ve miyenterik plexus çevresi Cajal hücreleri, CD34 için endotel hücreleri, SMA için düz kas tabakası, desmin için damar duvarları ve S-100 protein için plexus nöronlarının boyanması esas alındı ve boyanma yoğunluğu buna göre değerlendirildi. PKC  $\theta$  için plexus çevresi Cajal hücreleri, E2F1 için tonsildeki germinal merkez lenfositleri, p16 için; servikal intraepitelyal neoplazi-2 (CİN 2) kesiti pozitif kontrol olarak kullanıldı. CD117, CD34, SMA, desmin ve PKC $\theta$  için; sitoplazmik, S-100 protein için hem sitoplazmik hem nükleer, p16 için nükleer (sitoplazmik boyanma eşlik edebilir) ve E2F1 için nükleer boyanma arandı. Seçilen her bir bloktaki tüm tümörlü alanda CD117, CD34, SMA, S100 ve desmin için boyanma yaygınlığı semikantitatif olarak değerlendirilerek % yaygınlık olarak ifade edildi. CD117, CD34, SMA, S-100 protein ve desmin için tümör hücrelerinde boyanma olmadığında 0, %1-10 boyanma 1, % 11-50 boyanma fokal, % 50 den fazla boyanma ise diffüz (yaygın) boyanma olarak yorumlandı. Boyanma şiddetinin derecelendirilmesi ise, iç kontrol boyanması kıyaslanarak soluk boyanma 1, orta şiddette boyanma 2 ve pozitif iç kontrol ile aynı tonda kahverengi boyanma 3 olarak değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı %10 ve üzeri olanlar boyanma şiddetine bakılmaksızın, pozitif kabul edildi. CD117 için boyanma yaygınlığı %1-10 arasında olanlardan boyanma yoğunluğu 3 olanlar da pozitif kabul edildi (2). Ancak çalışmamızda, CD117 ile boyanma yoğunluğu 3, yaygınlığı %1-10 arasında boyanma gösteren olgu mevcut değildi. SMA, desmin ve S-100 protein boyanmasında, özellikle komşu dokulara yakın alanlarda izlenen tek hücre reaksiyonları, tümör içinde kalmış düz kas ya da sinir lifleri olarak kabul edilip değerlendirmeye dahil edilmedi. PKC $\theta$  için, interstisyel Cajal hücreleriyle aynı tonda veya daha açık tonda kahverengi boyanma arandı. Buna göre tümör hücrelerinde boyanma olmadığında 0, %1- 5'inde boyanma 1, % 6-50'sinde boyanma fokal, %50'den fazla boyanma diffüz olarak derecelendirildi. Boyanma yaygınlığı %5'in üzeri olanlar pozitif kabul edildi (53). p16 boyanması tüm tümör alanı göz önüne alınarak semikantitatif olarak değerlendirildi ve tümör hücrelerinin % 20'sinin altında boyanma olduğunda negatif, % 80'inden fazla boyanma olduğunda pozitif, %20 -%80 tümör hücresinde boyanma gözleendiğinde ise literatür verileri de gözden geçirildiğinde pozitif ya da negatif kararına varılamayıp "inconclusive" olarak yorumlandı (13). E2F1 boyanması, kantitatif olarak, boyanmanın en yoğun olduğu alanda değerlendirildi ve 1000 hücre sayılarak yüzde olarak ifade edildi (14).

### 3.3- İstatiksel Yöntemler

Araştırmadan elde edilen veriler kodlandıktan sonra SPSS 13.0 paket programında bilgisayara aktarıldı ve analiz edildi. Veriler değerlendirilirken normal dağılıma uyan sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma ve diğerleri ortanca (en küçük-en büyük) ile, frekans veriler ise yüzde (%) ile ifade edildi. İstatistiksel analizlerde tüm ölçümsel değişkenler için normalite testleri yapıldı. PKC $\theta$  için duyarlılık hesaplandı. Frekans verilerinin istatistiksel karşılaştırılmasında ki kare testi, eğimde ki kare testi ile korelasyon testi uygulandı ve istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi. Ölçümsel verilerin karşılaştırılması için "Kruskal Wallis testi" yapıldı ve istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi. "Kruskal Wallis" testinde anlamlı çıkan değerlerin ikili karşılaştırılmasında ise Bonferonni düzeltmeli "Mann-Whitney U" testi kullanıldı ve bu testte istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,01$  olarak kabul edildi.

#### 4- BULGULAR

Çalışmamızdaki 57 olgunun 29 'u kadın, 28 'i erkekti. Hastalar 31- 85 yaş arasında olup ortalama yaş 59.3 (SD= 13.3) idi. Çalışma grubumuzda çocuk olgu mevcut değildi. Serimizde klinik olarak tanı almış nörofibromatozis veya Carney triadı saptanmadı.

Klinik semptomlar sırasıyla, hasta ya da doktoru tarafından palpe edilen abdominal kitle varlığı (24 olgu), abdominal ağrı (23 olgu), kilo kaybı (5 olgu), gastrointestinal kanama (2 olgu; melena) ve yutma güçlüğüydü (1 olgu). İki olgu asemptomatik olup, lezyonlar diğer nedenlere bağlı radyolojik incelemede tespit edilmişti. Yutma güçlüğü olan tek olguda, tümör, özefagus yerleşimliydi. Bir olguda gastrik adenokarsinom, bir olguda ise gastrik lenfoma nedeniyle yapılan operasyonda, operasyon materyalinde insidental olarak 1 ve 0,4 cm çapında GİST saptandı. Tanı sırasında peritoneal yayılımı olan altı olgu, karaciğer metastazı olan bir olgu ve komşu lenf nodu metastazı olan iki olgu mevcuttu. Bir olguda ise hem peritoneal yayılım hem de komşu lenf nodu metastazı vardı. Tüm olgularda küratif amaçlı tümöral eksizyon ya da radikal cerrahi uygulanmıştı. Sadece bir olguda tanı amaçlı endoskopik biyopsi yapılmıştı. 57 olgudan 45 olguda ulaşılabilen klinik takip süreleri ortancası 19 (1-135) aydı. İki olguda ilk bir yıl içinde, bir olguda ise üç yıl sonunda intraabdominal rekürrens saptandı. Üç yılın sonunda rekürrens gözlenen olguda aynı zamanda karaciğer metastazı da mevcuttu. Cerrahi olarak anrezektabl kabul edilen üç olgu, karaciğer metastazı olan bir olgu, intraabdominal yayılımı olan bir olgu ve rekürrens görülen üç olguda STI-571 (Glivec®) tedavisi uygulanmıştı. Takip süresi içinde eksitus olan sekiz olgudan üçünün ölüm nedeni GİST idi.

Tablo III: Olguların klinik özellikleri

Yaş	31-85
Erkek/Kadın	28/29
Semptomlar	
Kitle	24
Ağrı	23
Kilo kaybı	5
GİS kanama	2
Yutma güçlüğü	1
Asemptomatik	2
Tedavi	
Radikal Cerrahi/Tümöral Eksizyon	36/20
Endoskopik biyopsi	1
Adjuvan kemoterapi	-
Nüks / metastatik olgularda Glivec®	8
Takip süresi	1-135 ay

Olguların hiçbirinde, tümör rüptürü cerrahi notlarında belirtilmemişti. Üç olguda cerrahi sınır pozitifliği mevcuttu. Bu olgulardan klinik takibi olan iki tanesinde izlem süresi içinde nüks saptanmadı.

Tümör lokalizasyonları; 1 (%1,8) olguda özefagus, 29 'unda (% 50,9) mide, 19'unda (% 33,3) ince bağırsak ( 5'i duodenum, 6'sı jejunum, 6'sı ileum, 2 olgu bilinmiyor), 4'ünde (%7) kolon/rektum, 4'ünde (%7) ise omentum/ mezenter idi (Şekil 2).

52 olgu için ortalama çap 7cm (0,4- 30) di. Beş olguda tümör çapı, bölümümüzde sadece hazır blok ve preparatlar konsültasyon olarak değerlendirildiği için bilinmiyordu.

Olguların 51'i (%89,5) ekspansil, 6 'sı (%10,5) infiltratif büyüme paternine sahipti. Mukozal invazyon varlığı, mukoza ile komşuluğu örneklenmiş 48 olguda değerlendirilebildi, bunların 9'unda (%15,8) invazyon saptandı (Şekil 3). Olguların 32'si (%56,1) iğsi, 3'ü (%5,6) epiteloid, 22'si (%38,6) hem iğsi hem epiteloid morfolojideki hücrelerden oluşmaktaydı ( Şekil 4-5). Tamamen epiteloid morfolojiye sahip 3 olgunun 2'si mide, 1'i ileum kökenliydi. Ellibir (%89,5) olguda hücresel yoğunluk gözlenirken, 6 (%10,5) olguda hücresel yoğunluk saptanmadı. Yaygınlığına göre değerlendirdiğimiz hücresel pleomorfizme, 16 (%28,1) olguda rastlanmadı. 30 (%52,6) olguda fokal, 11

(%19,3) olguda ise diffuz pleomorfizm mevcuttu. Koagülasyon nekrozu, çapları 3 ile 30cm arasında değişen 27 olguda (%47,4) mevcuttu. Endoskopik biyopsi yapılmış, 1 olguda nekroz değerlendirilmedi. Olgularda mitoz sayısı ortancası 5 (minimum:1-maksimum:65) / 50 BBA idi (Tablo IV)

Tablo IV: Lokalizasyonlara göre histomorfolojik bulgular

<b>Morfolojik özellikler</b>	Özefagus (n=1)	Mide (n=29)	İnce bağırsak (n=19)	Kolon/rektum (n=4)	Omentum/mezenter (n=4)	Toplam
<b>Çap(cm),</b> ortanca (min-maks)	3	6 (1-25)	8,5 (0,4-25)	13,5 (3,5-30)	7,5 (6-16,5)	
<b>Gelişim paterni (n= 57)</b>						
Ekspansil	1	25	18	3	4	51
İnfiltratif	-	4	1	1	-	6
<b>Mukozal invazyon (n= 48)</b>						
Yok	-	23	12	3	1	39
Var	-	4	5	-	-	9
<b>Hücre tipi (n= 57)</b>						
İğsi	-	19	8	3	2	32
Epiteloid	-	2	1	-	-	3
Mikst	1	8	10	1	2	22
<b>Hücresel yoğunluk (n= 57)</b>						
Düşük	1	3	2	-	-	6
Yüksek	-	26	17	4	4	51
<b>Pleomorfizm (n= 57)</b>						
Yok	1	9	4	2	-	16
Fokal	-	16	10	1	3	30
Yaygın	-	4	5	1	1	11
<b>Nekroz varlığı (n=56)</b>						
Yok	1	18	8	-	2	29
Var	-	10	11	4	2	27
<b>Mitotik aktivite /50 BBA (Min-maks)</b>	4	1-40	3-33	5-65	8-23	

İğsi hücre morfolojisine sahip, mide yerleşimli 6 olgu, duodenum yerleşimli 1 olgu ve kolon yerleşimli 1 olguda palizatlanma paterni izlendi ( Şekil 4).

Mide yerleşimli, iğsi hücre morfolojisine sahip 3 olguda paranükleer vakuol gözlemlendi ( Şekil 6). Jejunum yerleşimli, mikst hücre morfolojisinde 1 olguda “*nested*” patern gözlemlendi. “Skenoid lif” hiçbir olguda saptanmadı. Mide kökenli 4, duodenum kökenli 1 olguda multinükleer tümör dev hücreleri izlendi. Belirgin miksoid zemin 8 olguda izlendi, bunların 4’ü iğsi, 3’ü mikst, 1’i epiteloid hücre morfolojisindeydi. 23 olguda intratümöral, 3 olguda ise peritümöral dokuda belirgin lenfosit infiltrasyonu mevcuttu. 31 olguda ise lenfositik infiltrasyon gözlenmedi.

Olgular, sadece çap ve mitoz sayısı parametrelerinin kullanıldığı Fletcher (2) risk grubuna göre sınıflandırıldığında, 12 ‘si düşük, 13 ‘ü orta, 29’u yüksek risk grubundaydı (Tablo V). Tümör çapı bilinmediği için risk gruplandırması yapılamayan 5 olgudan mitoz sayısı 10’un üzerinde olan 2 olgu yüksek risk grubunda kabul edildi. Üç olgunun ise risk gruplaması yapılamadı. Lokalizasyona göre risk grupları dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p= 0,19).

Tablo V: Lokalizasyona göre risk gruplarının dağılımı

	DÜŞÜK RİSK GRUBU sayı	ORTA RİSK GRUBU sayı	YÜKSEK RİSK GRUBU sayı	TOPLAM
Özefagus	1	-	-	1
Mide	7	9	10	26
İnce bağırsak	3	3	13	19
Kolon/rektum	1	1	2	4
Omentum/mezenter	0	0	4	4
TOPLAM	12	13	29	54

Fletcher’in risk sınıflamasına göre tanı anında peritoneal implant saptanan bir olgu düşük, altı olgu yüksek risk grubundaydı. Lenf nodu metastazı her risk grubunda birer taneydi. Karaciğer metastazı olan bir olgu düşük, diğeri ise yüksek risk grubundaydı. Nüks eden olguların ikisi yüksek, biri düşük risk grubundaydı. Sonuç olarak klinik olarak malign seyretmiş bu olguların çoğu yüksek risk grubunda olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi.

Risk grupları arasında ekspansil veya infiltratif gelişim paterni açısından anlamlı bir fark gözlenmedi. Mukozal invazyon gözlenen olguların 2'si düşük, 1'i orta, 6'sı yüksek risk grubundaydı. İğsi ya da epiteloid hücre tipine göre risk grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Hücresel yoğunluk gözlenen olguların 9'u düşük, 12'si orta, 28'i yüksek risk grubundaydı. Bir başka değişle orta ve yüksek risk grubu tümörlerde hücreden fakir morfoloji sadece 1'er olguydu. Fokal ya da diffüz pleomorfizm gözlenen olguların 6'sı düşük, 9'u orta, 24'ü yüksek risk grubundaydı. Bu artış istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,008$ ). Nekroz gözlenen olguların 4'ü düşük, 6'sı orta, 17'si yüksek risk grubundaydı. Risk grubu artıkça, nekroz ve mukozal invazyon varlığı ve hücresel yoğunluk artmasına rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo VI).



Tablo VI: Risk gruplarına göre histomorfolojik bulguların dağılımı

	Düşük risk grubu (n) (%)*	Orta risk grubu (n) (%)*	Yüksek risk grubu (n) (%)*	p değeri
<b>Gelişim paterni</b>				
Ekspansil	11(22,9)	12(25)	25 (52,1)	0,79
İnfiltratif	1(16,7)	1(16,7)	4 (66,7)	
<b>Mukoza invazyon</b>				
Yok	9 (25)	10(27,8)	17 (47,2)	0,67
Var	2(22,2)	1(11,1)	6 (66,7)	
<b>Hücre tipi</b>				
İgisi	7 (23,3)	8 (26,7)	15 (50)	0,19
Epiteloid	2 (66,7)	1 (33,3)	0 (0)	
Mikst	3 (14,3)	4 (19)	14 (66,7)	
<b>Hücresel yoğunluk</b>				
Düşük	3 (60)	1(20)	1(20)	0,09
Yüksek	9(18,4)	12(24,5)	28(57,1)	
<b>Pleomorfizm</b>				
Yok	6 (40)	4 (26,7)	5 (33,3)	0,008
Fokal	6 (21,4)	9 (32,4)	13 (46,4)	
Yaygın	-	-	11 (100)	
<b>Nekroz varlığı</b>				
Yok	8 (30,8)	7 (26,9)	11 (42,3)	0,26
Var	4 (14,8)	6 (22,2)	17 (63)	

n= Sayı ,\*= Satır yüzdesi

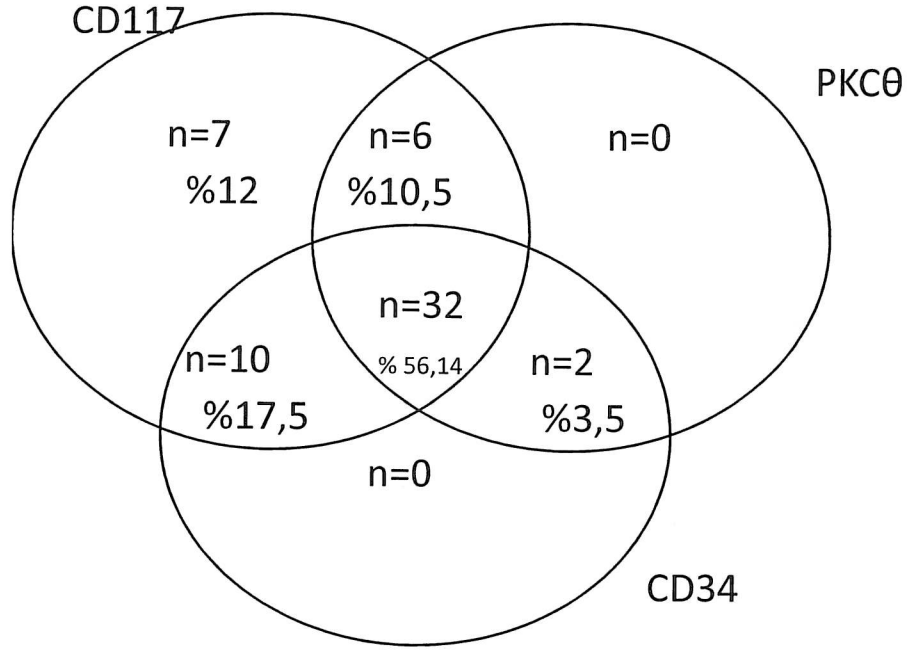
İmmünohistokimyasal çalışmada, CD117 ekspresyonu sitoplazmik olarak 55 tümörde (%96,5) saptandı (Şekil 7). 40 tümörde (% 70,2 ) diffüz, 15 tümörde (% 26,3) ise fokal boyanma izlendi. Boyanma saptanmayan iki olguda, hem CD34 hem PKCθ pozitifliği. CD34 pozitifliği 44 tümörde (%77,2) saptandı, 31'inde (%54,4) diffüz, 13'ünde (%22,8) fokal boyanma izlendi. PKCθ ekspresyonu, 24'ü (%42,1) diffüz, 16 'sı (%28,1) fokal olmak üzere toplam 40 (%70,2) tümörde saptandı (Şekil 8). SMA ekspresyonu 38 tümörde (%66,7) saptandı, bunların 22'sinde (%38,6) boyanma yaygındı, 16'sında (%28,1) ise

fokal boyanma gözlemlendi. S100 protein ile 22 tümörde (%38,6) boyanma izlendi, bunların sadece altısında (%10,5) boyanma yaygındı. S100 ile yaygın pozitiflik saptanan tümörlerin hepsi CD117 ile, dördü CD34 ile ve ikisi de desmin ile pozitif boyanırken hiçbiri SMA ile boyanmamıştı. Desmin ekspresyonu 17 tümörde (%29,8) saptandı. Bunlardan sadece altısında (%10,5) boyanma yaygın olup aynı zamanda CD117 ve CD34 pozitifliği. Lokalizasyona göre CD117, CD34, PKC  $\theta$ , SMA, S100 ve desmin boyanma durumları aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (Tablo VII). CD117, CD34, PKC  $\theta$ , SMA, S100 ve desmin boyanmaları, tümör lokalizasyonlarına göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar göstermiyordu.

Tablo VII: Lokalizasyona göre immünohistokimya boyanmaları

	CD117		CD34		PKC $\theta$		SMA		S100		Desmin	
	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N
Özefagus (n=1)	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0
Mide (n=29)	27	2	27	2	22	7	20	9	9	20	8	21
İncebağırsak (n=19)	19	0	12	7	11	8	12	7	9	10	7	12
Kolon/Rektum (n=4)	4	0	2	2	3	1	2	2	3	1	1	3
Omentum/mezenter (n=4)	4	0	3	1	4	0	3	1	1	3	0	4
TOPLAM (n=57)	55	2	44	13	40	17	38	19	22	35	17	40
TOPLAM (%)*	<b>96,5</b>		<b>77,2</b>		<b>70,2</b>		<b>66,7</b>		<b>38,6</b>		<b>29,3</b>	

P: Pozitif boyanma N: Negatif boyanma \*: İHK pozitif boyanma yüzdesi



Şekil 9. GİST’lerde, CD117, CD34, PKCθ immun belirleyicileri ile boyanma durumu

GİST tanısı için; histomorfolojik olarak GİST ile uyumlu ve CD117 ve /veya CD34 pozitifliği şartı kabul edildi (2, 19, 45). Buna göre PKC θ duyarlılığı % 70,2 bulundu.

p16 immünekspresyonunun, 12 tümörde (% 21,1) negatif, 16 tümörde (% 28) pozitif olduğu saptandı. Yirmidokuz tümörde (%50,9) ise boyanma “inconclusive” olarak yorumlandı. Tümör lokalizasyonlarına göre p16 immünekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı farklar göstermediği görüldü.

p16 boyanma kaybı, Fletcher risk grubuna göre, düşük risk grubundaki bir olguda (%9,1), orta risk grubundaki iki olguda (%18,2) ve yüksek risk grubundaki sekiz olguda (%72,7) gözlemlendi (Şekil 10a). p16 boyanmasının “inconclusive” olarak değerlendirildiği, düşük risk grubunda dört olgu (%14,3), orta risk grubunda 10 olgu (%35,7), yüksek risk grubunda ise 14 olgu (%50) mevcuttu. p16 aşırı ekspresyonu ise düşük risk grubundaki yedi olguda (%46,7), orta risk grubundaki bir olguda (%6,7), yüksek risk grubundaki yedi olguda (%46,7) gözlemlendi (Şekil 10b). p16 boyanması açısından risk grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı (p= 0,036) (Tablo VIII). Bu, düşük risk grubunun yüksek ve orta risk grubuyla arasındaki farktan kaynaklanıyordu (yüksek risk grubuyla p=0,009 ve orta risk grubuyla p=0,02). Orta risk grubu ile yüksek risk grubu arasında ise

p16 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p= 0,21). p16 pozitifliği düşük risk grubundaki olgularda yüksek orandaydı.

Tablo VIII: Risk gruplarına göre p16 boyanması

P16	Düşük risk grubu n (%)*	Orta risk grubu n (%)*	Yüksek risk grubu n (%)*	X <sup>2</sup>	p değeri
NEGATİF	1 (% 9,1)	2 (% 18,2)	8 (%72,7)	10,254	0,036
“INCONCLUSIVE”	4 (% 14,3)	10 (%35, 7)	14 (%50)		
POZİTİF	7 (% 46,7)	1 (% 6,7)	7 (%46,7)		
TOPLAM(n=54) **	12	13	29		

\*= Satır yüzdesi, \*\*= Risk grupları kategorize edilebilen olgu sayısı

Çalışma grubumuz, çapı >5cm ve ≤ 5cm olarak iki gruba ayrıldığında, p16 boyanması ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p= 0,02). Çapı 5 ve 5cm'den küçük olan olgularda p16 boyanma oranı daha fazlaydı (Tablo IX). Ekspansil ve infiltratif gelişim gösteren tümörler arasında p16 boyanmasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p= 0,93). Mukozal invazyon izlenen ve izlenmeyen tümörler arasında p16 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p= 0,32). Epiteloid hücre morfolojine sahip tümörlerle iğsi nitelikteki tümörler arasında p16 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p= 0,4). Hücresel yoğunluğu az ya da çok olan tümörler arasında, p16 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p= 0,4). Pleomorfizm varlığı açısından p16 boyanmasının istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p= 0,29). Ancak nekroz varlığına göre tümörler karşılaştırıldığında, p16 boyanmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p= 0,04) (Tablo IX). p16 aşırı ekspresyonu görülen olgularda nekroz görülme oranının daha az olduğu izlendi. p16 boyanması açısından mitoz grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p= 0,3).

Tablo IX: İstatistiksel olarak anlamlı morfolojik bulgulara göre p16 boyanması

	Negatif sayı (%)	“Inconclusive” sayı (%)	Pozitif sayı (%)	X <sup>2</sup>	p değeri
Çap >5cm	8 (80)	23 (82,1)	6 (42,9)	7,49	0,02
Çap ≤ 5cm	2 (20)	5 (17,9)	8 (57,1)		
Nekroz var	9 (75)	14 (48,3)	4 (26,7)	6,23	0,044
Nekroz yok	3 (25)	15 (51,7)	11 (73,3)		

E2F1 boyanma yüzdeleri %0 ila % 48,6 arasında değişmekteydi ve yüzde ortancası %4,3 idi. Fletcher risk gruplarına göre düşük dereceli 12 olguda E2F1 yüzde ortancası 1,55 (0-13), orta risk grubundaki 13 olguda yüzde ortancası 4 (0- 10,3), yüksek risk grubundaki 29 olguda yüzde ortancası 10,1(0- 48,6) idi (Şekil 11a-b). Risk gruplarına göre E2F1 boyanma oranları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p= 0,004) (Tablo X). Bu, yüksek risk grubunun, düşük ve orta risk grubu tümörlerle arasındaki farktan kaynaklanıyordu (düşük risk grubu ile p= 0,004, orta risk grubu ile p= 0,012). Düşük risk grubu ile orta risk grubu arasında ise E2F1 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi (p= 0,36). Yüksek risk grubundaki tümörlerde, düşük risk grubundaki tümörlere göre E2F1 ifadesi daha fazlaydı.

Tablo X: Risk gruplarına göre E2F1 boyanması

	Düşük risk grubu	Orta risk grubu	Yüksek risk grubu	p değeri
E2F1	1,55 (0-13)	4 (0- 10,3)	10,1 (0-48,6)	0,004

Tümör lokalizasyonlarına göre, E2F1 boyanmasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p=0,3).

Çalışma grubumuz, çapı 5cm'den büyük olanlar ve 5cm ve daha küçük tümörler olarak iki gruba ayrıldığında, E2F1 boyanması açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,02). Gelişim paternine göre E2F1 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p= 0,37). Mukozal invazyon varlığı ile yokluğu arasında E2F1 boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p= 0,08). İğsi ya da epitelooid hücre tipine sahip tümörler arasında E2F1 boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi (p= 0,09). E2F1 boyanması, hücresel yoğunluğa sahip tümörlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösteriyordu (p= 0,03). Pleomorfizm

gösteren tümörlerde E2F1 boyanma oranı fazlaydı ancak pleomorfizm göstermeyen tümörlerle istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,06$ ). Nekroz içeren tümörlerle içermeyenler arasında E2F1 boyanması istatistiksel olarak anlamlı farka sahipti ( $p=0,02$ ). Çalışma grubumuzu mitoz sayısına göre  $>5$  ve  $\leq 5$  olarak iki gruba ayırdığımızda, E2F1 boyanmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi ( $p=0,01$ ). Sonuç olarak, hücresel yoğunluğu yüksek, nekroz gözlenen, çapı  $>5$ cm ve mitoz sayısı  $>5/50$ BBA olan tümörlerde, hücresel yoğunluğu düşük, nekroz gözlenmeyen, çapı  $\leq 5$ cm ve mitoz sayısı  $\leq 5/50$ BBA olan tümörlere göre E2F1 boyanma oranı daha fazlaydı (Tablo XI).

Tablo XI: İstatistiksel olarak anlamlı morfolojik bulgulara göre E2F1 boyanması

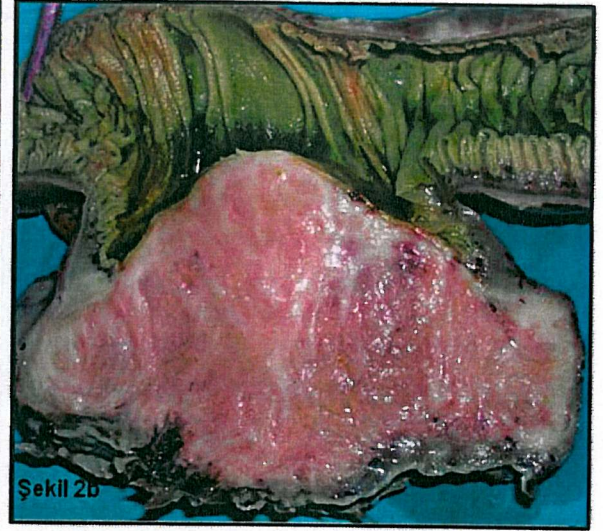
	E2F1 boyanma yüzdesi Ortanca (minimum- maksimum)	p değeri
Çap $>5$ cm	5,7 (0-48,6)	0,02
Çap $\leq 5$ cm	1,8 (0- 13)	
Hücresel yoğunluk yüksek	5,0 (0-48,6)	0,03
Hücresel yoğunluk düşük	1,6 (0-0,5)	
Nekroz var	10,3 (0-48,6)	0,02
Nekroz yok	3,6 (0-31,3)	
Mitoz $>5$	14,65 (0-48,6)	0,01
Mitoz $\leq 5$	2,85 (0-31,3)	

p16 boyanması ve E2F1 boyanma yüzdeleri arasında pozitif veya negatif bir ilişki saptanmadı ( $p=0,97$ ,  $r=-0,005$ ).

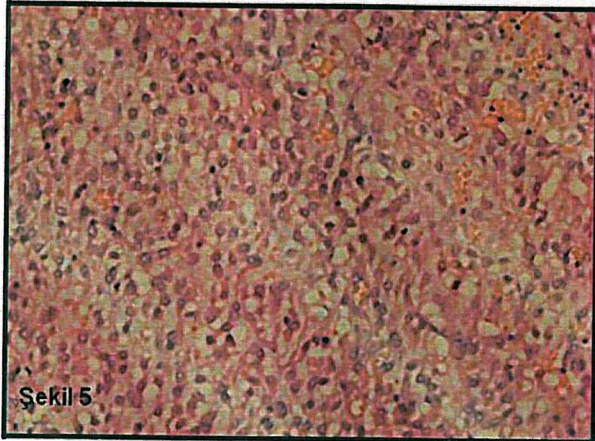
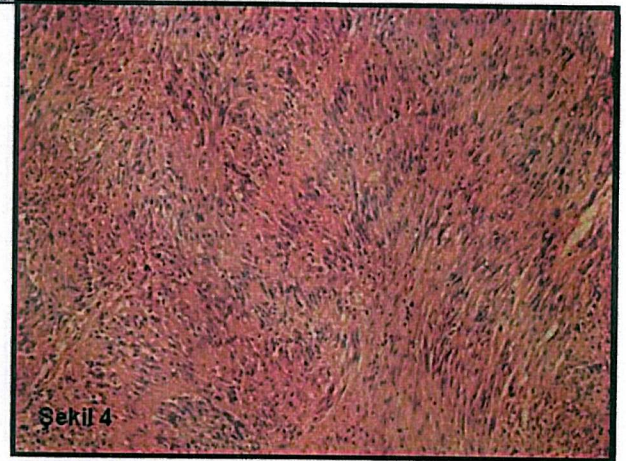
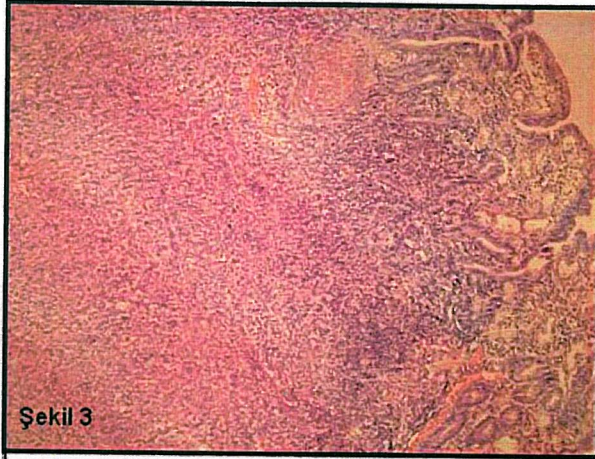
Agresif klinik davranış gösteren gruptaki 10 olgunun sekizi (%80) yüksek, ikisi (%20) düşük risk grubundaydı. Klinik olarak en az 2 yıllık takip sonunda benign davranış sergilemiş gruptaki 15 olgunun beşi (%33,3) yüksek, yedisi (%46,7) orta ve üçü (%20) düşük risk grubundaydı. Klinik gruplar arasında, risk grubu dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösteriyordu ( $p=0,02$ ). Klinik olarak benign ve malign ayırımı yaptığımız olgularda, çap açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=1,00$ ). Klinik gruplar arasında, gelişim paterni ve mukozal invazyon varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,07$  ve  $p=0,26$ ). Hücre tipi açısından klinik gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p=0,32$ ). Klinik gruplar arasında hücresel yoğunluk ve pleomorfizm varlığı da istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiyordu ( $p=0,21$ ).

ve  $p= 0,84$ ). Nekroz varlığı ve mitoz sayısı açısından klinik gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p= 0,83$  ve  $p= 0,07$ ). Klinik gruplar arasında p16 ve E2F1 boyanması istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiyordu ( $p= 0,08$  ve  $p= 0,12$ ).





Şekil 2a-b. İnce bağırsak yerleşimli GİST ve leiomyom



Şekil 3. Mukozal invazyon gözlenen, epitelioid hücre morfolojisinde GİST (H&E, x 400)

Şekil 4. İğsi hücre tipinde, palizatlanma paterninin izlendiği GİST (H&E, X 200)

Şekil 5. Miksoid zeminde epitelioid hücre tipinde GİST (H&E, X 400)

Şekil 6. Mide yerleşimli GİST' de paranükleer vakuol (H&E, X 400)





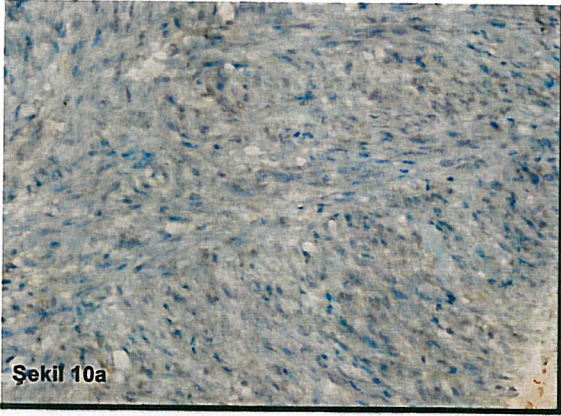
Şekil 7



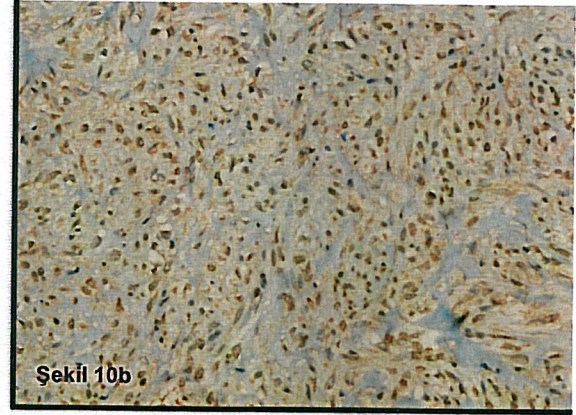
Şekil 8

Şekil 7. GİST'de diffüz CD117 pozitifliği (DAB, X 400)

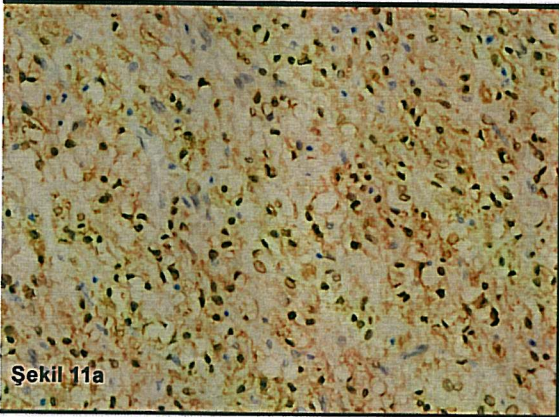
Şekil 8. GİST'de PKCθ ekspresyonu (DAB, X400)



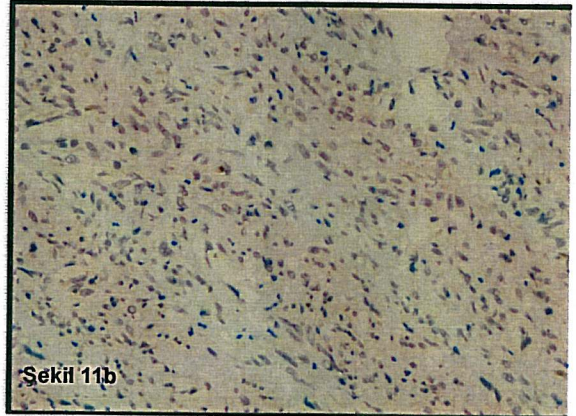
Şekil 10a



Şekil 10b



Şekil 11a



Şekil 11b

Şekil 10 (a). Yüksek risk grubundaki GİST' de p16 boyanma kaybı (DAB, X 400), (b).

Düşük risk grubundaki GİST'de p16 ekspresyonu (DAB, X400)

Şekil 11 (a). Yüksek risk grubundaki GİST'de E2F1 ekspresyonu (DAB, X400), (b).

Düşük risk grubundaki GİST'de E2F1 ekspresyonu (DAB, X400)



## 5- TARTIŞMA

GİST, gastrointestinal kanalın (GİK) en sık görülen primer mezenkimal tümörü olup, gastrointestinal sistem primer tümörlerinin %2'sini oluşturur. GİST' ler, GİK duvarındaki miyenterik plexus komşuluğunda bulunan, pacemaker aktivitesi olduğu düşünülen interstisyel Cajal hücreleri veya bunların prekürsörlerinden kaynaklanırlar. Dolayısıyla hem bu hücelere özgü nitelikler taşıyan hem de myoid ve/veya nöronal diferansiyasyon gösterebilen mezenkimal tümörlerdir (9).

GİST'ler, nadir konjenital olgular bildirilmişse de, 10 ile 90 yaş arasında görülebilen, ancak genellikle 40 yaş ve üzeri yaş grubunun tümörüdür (4). Bazı serilerde erkek hakimiyeti belirtilirken(23), çoğu olgu serilerinde cinsler arasında fark saptanmamıştır(1). Bizim çalışmamızda, 51 hasta 40 yaş üstüydü ve yaş ortalaması 59,3 (31-85)' dü. Erkek / kadın olgu sayısı oranı ise 28/29'du.

GİST, tüm GİK boyunca ve mezenter/omentum hatta retroperiton kökenli olabilir. Pek çok seride benzer lokalizasyon oranları belirtilmekte olup, mide %50-60, ince bağırsak %20-30, kolon/rektum %10, özefagus %5 ve omentum/mezenter/retroperiton %5'tir(2). Çalışmamızda, literatürle uyumlu olarak, mide yerleşimi (%51) en sıktı, daha sonra sırasıyla ince bağırsak (%33), kolon/rektum (%7), mezenter/omentum (%7) ve özefagus (%2) geliyordu.

GİST, tanısında CD117, CD34, SMA, S-100 protein ve desmin içeren immunhistokimya paneli kullanılmaktadır (2). CD117 ve CD34 bu tümörlerdeki İCH kökenini destekler ve duyarlılığı yüksektir. SMA, desmin ve S-100 protein, tümörün düz kas veya nöronal diferansiyasyonunu gösterir ancak özgüllük ve duyarlılıkları düşüktür (2). Miittinen ve ark.'nın (23) yaptığı, 1765 olgudan oluşan çalışmada ise CD117 pozitiflik oranı %91 olarak bulunmuştur. Bu tümörlerde tanısız olan CD117'nin negatif olmasının nedeni öncelikle, fiksasyon artefaktı, kesitlerin kurutulma aşamasında aşırı ısıya maruz kalması veya kesitlerin boyanma öncesi uzun süre bekletilmesi gibi teknik nedenler ya da uygun tümör alanının örneklenmiş olmaması olabileceği belirtilmekte, buna göre farklı tümör bloklarında birkaç tekrarlama önerilmektedir. Ayrıca olgu serilerinde %2 - %10 arasında değişen oranda gerçek CD117 "negatif" tümör bildirilmektedir (2,23). GİST'lerin çoğunda CD117 pozitifliği yaygındır ancak sadece %5-20 tümör hücresini ilgilendiren fokal boyanmalar da gözlenebilir (2). Bizim çalışmamızda, CD117, 55 olguda (%96,5) pozitif bulundu. 15 tümörde (%26,3) boyanma fokaldir, ancak %10'un altında tümör hücresinde yoğun pozitif boyanma gösteren olgumuz yoktu.

CD117 ayrıca timik karsinom, seminom ve Ewing sarkom gibi bazı karsinom ve yumuşak doku tümörlerinde de eksprese edilmektedir. Yine intraabdominal yerleşim gösterebilen schwannom, anjiosarkom, metastatik melanom gibi bazı mezenkimal morfolojiye sahip tümörlerde de genellikle fokal olmak üzere pozitifliği bildirilmiştir (62). İntraabdominal fibromatozis, desmoid tümörde CD117 pozitifliğini gösteren ya da tam aksine negatifliğini işaret eden çalışmalar da mevcuttur (62, 63). Sonuç olarak GİST için tanı ve tedavi belirleyici olarak kullanılan CD117 immünekspresyonunun varlığını göstermek ve doğru bir şekilde yorumlayabilmek son derece önemlidir.

GİST'lerin tanısında ikinci en önemli belirleyici CD34'ün pozitifliği bazı çalışmalarda % 60-70 (2), bazı çalışmalarda ise %70-80 olarak verilmektedir (43). Çalışmamızda CD34, 44 olguda (%77,2) pozitifdi ve bu oran literatürle uyumluydu. Ancak akılda tutulması gerekir ki, histomorfolojik olarak GİST ile karışabilecek intraabdominal yerleşimli soliter fibröz tümör, schwannom gibi bazı mezenkimal tümörler de, fokal veya diffüz CD34 pozitifliğine sahiptir (64,6).

Ayrıca myojenik ve/veya nörojenik diferansiyasyon yönünde, serilerde değişmek üzere, GİST'lerin %30-40'ı SMA ile, % 5'i S-100 protein ile genellikle fokal olarak pozitif boyanır (2). Miettinen ve ark.'nın (43) yaptığı araştırmaya göre CD34 %70-80, SMA %20-40, S100 %5, desmin ise %1-2 oranında pozitif bulunmuştur. Çalışmamızda SMA 38 olguda (%66,7), S-100 protein 22 olguda ( %38,6), desmin ise 17 olguda (%29,8) pozitif bulundu. Bu oranların literatürde belirtilen oranlardan yüksek olduğu dikkat çekicidir. Dolayısıyla bu belirleyicilerin GİST tanısı için panele eklenmesinin çok da gerekli olmadığı düşüncesindeyiz.

Çalışma sonuçlarımızda da görüldüğü gibi, GİST'lerde tanı amaçlı yaptığımız immunhistokimyasal panelin değişen boyanma profili tanıda güçlük yarattığından literatürde, GİST tanısını destekleyebilecek başka belirleyicilerin aranmasına yönelik pek çok çalışma mevcuttur.

PKCθ'nın, rektum hariç hemen tüm c-kit pozitif İCH'lerde sitoplazmik immunreaktivitesi gösterilmiştir (11, 52). PKCθ'nın, KIT veya PDGFRA mutasyonel durumlarına bakılmaksızın tüm GİST'lerde eksprese edildiği, leiomyosarkom ve desmoid tümör gibi histomorfolojik olarak GİST'e benzeyebilen diğer tümörlerde ise ekspresyonunun olmadığı belirtilmiştir (53). Schwannomlarda ise fokal zayıf PKCθ ekspresyonu saptanmakla beraber bu ekspresyonun sadece verokay cisimciğinde sınırlı olduğu gözlenmiştir (65). Çalışmamızda 57 GİST'den 40'ı (% 70,2) PKCθ ile pozitif boyandı. Pozitif boyanan tümörlerin 24'ünde boyanma yaygın, 16' sında ise fokaldi.

CD117 negatif olan 2 olgu da PKC $\theta$  ile pozitif boyandı. PKC $\theta$  ile negatif boyanan tüm olgular ise CD117 ile pozitif. Duensing ve ark.(53) yaptıkları çalışmada, PKC $\theta$ 'nın GİST'lerde %72 oranında eksprese edildiğini belirtmişlerdir. Yine aynı çalışmada PKC $\theta$ 'nın GİST'ler için spesifik ve sensitif bir moleküler belirleyici ve buna karşı geliştirebilecek hedef molekül tedavisi için bir aday olabileceği vurgulanmıştır (53). Atsushi ve ark.(64), yaptıkları çalışmada PKC $\theta$ 'nın %85 oranında GİST'lerde eksprese edildiğini göstermişlerdir. Görüleceği gibi olgu serimizde literatürde belirtilen oranlardan biraz düşük olmakla birlikte yüksek oranda PKC $\theta$  pozitifliği saptanmış olup PKC $\theta$  duyarlılığı %70,2 bulundu. Kontrol olarak kullandığımız leiomyom (4 adet), leiomyosarkom (1 adet) ve pleomorfik sarkom (1 adet) olgularında PKC $\theta$  negatifti. Ancak kontrol grubumuzun sağlıklı bir özgüllük yorumu için yeterli olmadığı kanaatindeyiz. GİST tanısı verirken, özellikle sitogenetik çalışmanın yapılamadığı merkezlerde, daha kolay ve ucuz olan immunhistokimyasal yöntem esastır ve PKC $\theta$  boyanmasının varlığını araştırmanın da GİST tanısını vermede büyük oranda katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Sonuç olarak, histomorfolojik olarak GİST'le uyumlu olduğunu düşündüğümüz tümörlerde ilk basamak olarak CD117 ve CD34 ile birlikte PKC $\theta$  immunhistokimya boyamaları uygulanıp, bu belirleyiciler ile negatif boyanma elde ettiğimizde ayırıcı tanıya yönelik SMA, S100 protein ve desmin gibi immunhistokimya boyamalarını uygulayabiliriz.

GİST'lerde benign / malign kavramı olmayıp, tüm tümörlerin az ya da çok nüks veya metastaz yapma riski olduğu kabul edilir (10). Günümüzde halen GİST'lerin klinik seyirlerinin tahminine yön verebilecek, aranması ve raporda belirtilmesi gereken prognostik bulguların neler olduğu konusunda netlik kazanmamış noktalar olmakla birlikte, GİST risk kategorizasyonu ile ilgili olarak 2002'de bu konuyla ilgili araştırmacılar bir araya gelerek ortak görüş yayınlamışlardır (2). Buna göre GİST'leri, tümör çapı ve mitoz sayısına göre çok düşük, düşük, orta ve yüksek risk grubu olmak üzere 4 gruba ayırmışlardır. Miettinen ve ark. (45), lokalizasyona göre GİST'lerin klinik davranışlarını incelediklerinde; özefagus yerleşimli GİST'lerin çoğunun kötü prognoz gösterdiğini, en büyük grubu oluşturan gastrik GİST'lerin benzer özellikteki ince bağırsak GİST'lerine göre daha iyi prognoza sahip olduğunu görmüşlerdir. Yine bu seride kolon yerleşimli GİST'lerin az oranda olduğu ancak malign seyrettiği, yine GİK dışı GİST'lerde de malignite oranının yüksek olduğu belirtilmiştir (45). Buna göre Miettinen, çap ve mitoz parametrelerini tümör lokalizasyonuna göre yorumlayarak bazı farkları olan üçlü bir risk kategorizasyonu yapmıştır (45). Çalışmamızda, NIH tarafından da kabul edilmiş olan

Fletcher risk kategorizasyonu esas alınmış olup; 12 olgu düşük, 13 olgu orta, 29 olgu yüksek risk grubundaydı. Literatürle uyumlu olarak, yüksek risk grubundaki olguların 10' u mide, 13'ü ince bağırsak, 2 'si kolon, 4'ü GİK dışı yerleşimliydi. İnce barsak yerleşimli GİST' ler mide yerleşimli GİST' lere oranla daha fazla yüksek risk grubunda yer almaktaydı. Ancak risk gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir lokalizasyon paterni saptanmadı.

Çap ve mitoz dışında diğer parametreler risk grup değerlendirilmesine alınmamış olmakla birlikte; GİST'lerde, gelişim paterni, mukozal invazyon, hücre tipi, hücresel yoğunluk, hücresel pleomorfizm ve nekroz gibi bazı histomorfolojik özellikler değerlendirilir (45). Ancak bunlardan biri ya da bir kısmının bağımsız prognostik önemi olduğunu belirten çalışmalar olduğu gibi, olmadığını belirten çalışmalar da vardır (45).

İnfiltratif gelişim paterni birçok çalışmada agresif klinik seyirle ilişkilendirilmektedir (66). Bizim çalışmamızda da, literatürle uyumlu olarak infiltratif gelişim paternine sahip tümörlerin çoğu (% 66,7) yüksek risk grubundaydı. Ancak risk grupları arasında gelişim paterni açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ( $p=0,79$ ).

Miettinen ve ark.'nın (45) yaptığı çalışmada, mukozal invazyonun yüksek risk grubundaki GİST'lerde görüldüğü belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda mukozal invazyon görülen olguların %66,7'si yüksek risk grubunda olmasına rağmen, düşük risk grubunda iki, orta risk grubundaki bir olguda mukozal invazyon saptandı. Risk grupları arasında mukozal invazyon açısından istatistiksel olarak fark saptanmadı ( $p=0,67$ ).

Hücre tipi GİST'de önemli bir morfolojik parametre olabilir, epitelooid morfolojinin kötü prognozla ilişkilendirildiği az sayıda literatür mevcuttur (19). Buna göre başlangıçta Fletcher ve ark. GİST'leri, epitelooid/iğsi hücre özelliğini de katarak risk gruplarına ayırmış ve epitelooid hücre özelliğindeki GİST'lerde malignite kriteri için önerilen mitoz sayısını, iğsi karakterdeki GİST'lere göre daha az olarak belirlemişlerdir (67). Ancak günümüzde mevcut verilerle hücre tipinin prognoz açısından sınırlı bir anlam ifade ettiği belirtilmektedir (2). Miettinen ve ark.(23) GİST'leri histomorfolojik olarak 8 gruba ayırmaktadır (Bakınız sayfa 7). Bu gruplar içinde diffüz atipinin görüldüğü ve mitoz sayısının  $> 20/50$  BBA olduğu, iğsi veya epitelooid hücreli sarkomatöz GİST grubu belirlemişler ve bunların diğerlerine göre daha kötü prognozlu olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda da bu histomorfolojik gruplandırma yapılmaya çalışılmış, ancak paternlerin iç içe olduğu görüldüğünden pratik olarak uygulanmasının zor olduğu kanaatine varılmıştır. Bizim çalışmamızda, sarkomatöz tipte GİST olgusu 11 taneydi, her ne kadar

pratik uygulaması zor olsa da belki de bu tümörlerin ayırt edilmeleri önemli olabilir. Epiteloid veya iğsi hücre tipine göre bakıldığında ise risk grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p=0,19$ ).

GİST'lerde hücrel yoğunluğun daha çok agresif tümörlerde görüldüğü belirtilmiştir (2, 45). Çalışmamızda, hücrel yoğunluk gözlenen olguların 28'i (%54,9) yüksek risk, 12' si (%24,5) orta, 9'u (%17,6) düşük risk grubundaydı. Hücrel yoğunluk gözlenen olguların oranı literatürle uyumlu olarak yüksek risk grubunda fazla olmasına rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,09$ ).

GİST'lerde yaygın belirgin hücrel pleomorfizm nadirdir ancak literatürde hücrel pleomorfizmin daha çok agresif tümörlerde görüldüğü belirtilmiştir (1, 45). Fokal ya da diffüz pleomorfizm saptadığımız 39 olgudan 24 'ü (%61,5) yüksek risk, 9'u (%23,1) orta risk, 6'sı (%15,4) düşük risk grubundaydı. Bir başka deyişle, yüksek risk grubundaki olguların çoğu fokal ya da daha yüksek oranda da diffüz hücrel pleomorfizm gösteriyordu ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,008$ ).

Tüm mezenkimal tümörlerde olduğu gibi GİST'de de tümör nekrozunun daha çok agresif klinik seyirli tümörlerde görüldüğü bildirilmektedir (48). Çalışmamızda, 27 olguda nekroz görüldü bunlardan 17'si (%63) yüksek risk grubundaydı. Literatürle uyumlu olarak nekroz görülen olguların oranı yüksek risk grubunda fazlaydı ancak istatistiksel olarak risk grupları arasında anlamlı fark saptanamadı ( $p= 0,26$ ).

GİST'lerde, lenfositik hücre infiltrasyonu bulunmamasını, çok güvenilir bir parametre olmamakla birlikte, kötü prognoz ile ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur (48). Çalışmamızda, 28 olguda tümör içi ve çevresinde lenfositik infiltrasyon saptanmadı. Bunların 12'si (%42,9) yüksek risk grubundaydı. Lenfositik hücre infiltrasyonunun olup olmamasının güvenilir bir prognostik histomorfolojik parametre olarak kullanılamayacağı düşünülmüştür.

Uterusdaki miksoid leiomyosarkomlarda, daha düşük mitotik aktivite ve hücrel yoğunluk gözlenmesine rağmen, diğer leiomyosarkomlara benzer şekilde prognozun kötü olduğu belirtilmiştir (68). Miksoid zemin varlığı, prognozla ilişkisi belirtilmemiş olmakla birlikte GİST'lerde tarif edilmiştir. Çalışmamızda sadece sekiz olguda miksoid zemin izlendi ancak az sayıda olguda izlenmesi nedeniyle istatistiksel çalışmaya alınmadı.

GİST'ler farklı derecelerde agresif klinik davranış sergileyebilen heterojen bir tümör grubudur (69). Yüksek risk grubundaki GİST'lerde 2-3 yıl içerisinde peritonda rekürrens görülürken, diğer risk gruplarında daha uzun zaman sonrasında ve daha nadiren nüksler olabileceği belirtilmektedir (70). Bizim çalışmamızda, olguların bir kısmında, tanı

anında peritoneal implant, lenf nodu veya karaciğer metastazı saptanmıştı. Yüksek risk grubundan iki olgudan biri 3 yıl, diğeri ise 7 ay sonunda intraabdominal bölgede nüks etmişti. 3 sene sonunda nüks eden olguda aynı zamanda karaciğerinde de metastaz mevcuttu. Çalışmamızda en az iki yıl takip edebildiğimiz 25 olgu, benign davranış sergileyen ve agresif klinik davranışa sahip olan iki gruba ayrıldı. Bu iki grup arasında, Fletcher risk grupları dağılımı açısından istatistiksel olarak fark vardı. Ancak gelişim paterni, mukozal invazyon, hücre tipi, pleomorfizm, nekroz varlığı, çap ve mitoz tek tek karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. Bu sonuç, histomorfolojik parametrelerin klinik prediktif değerini test edebilmek için, 25 olgu sayısının az ya da 2 yıl takip süresinin bu tümörlerin gerçek klinik davranışını belirlemek için yetersiz olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Yine de GİST'lerde malign potansiyeli tahmin etmekte sadece morfolojik bulgular yetersiz kalabilir. GİST tümörögenез ve malignite progresyonunda yer alan moleküler değişiklikler saptanabilirse klinik davranış tahmin edilebilir, hatta buna yönelik hedef molekül tedavileri geliştirilebilir. Biz de çalışmamızda hücre döngüsünde G1/S fazına geçişi kontrol etme rolü olan moleküllerden p16 ve E2F1'in GİST'lerdeki immünekspresyonunu araştırdık. G1/S geçişinde Rb-E2F kompleksi ayrılır ve serbest ve aktif hale gelen E2F1 mitoz için gerekli pek çok genin transkripsiyonunu başlatır. Rb-E2F kompleksinin Rb fosforilasyonu ile ayrılmasını siklin bağımlı kinaz-siklin kompleksi yapar. p16 ise siklin bağımlı kinazla siklinin kompleks oluşturmasını engelleyen bir tümör supresör gen ürünüdür (14, 54, 55).

p16 protein ekspresyon kaybı Schneider-Stock ve ark. (56) ile Sabah ve ark. (13, 57) tarafından yapılan çalışmalarda yüksek riskli GİST'lerle ilişkilendirilmiştir. Schneider-Stock ve ark. (56) 284 GİST olgusundan oluşan, %20 tümör hücresinde boyanmayı eşik değer kabul ettikleri çalışmalarında, p16 ekspresyonunu lokalizasyon, çap, nekroz ve klinik seyriyle ilişkilendirmiş ve olguların %50 'sinde p16 boyanma kaybı saptamışlardır. Bu olguların p16 pozitif tümörlerden daha kötü prognoza sahip olduğu belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada gastrik GİST'lerde p16 kaybının ince bağırsak GİST'lerine oranla daha fazla olduğu belirtilmiştir (56). Bizim çalışmamızda düşük risk grubundaki 12 olgudan, 7 olgu (%46,7) p16 pozitif, 1 olgu (%9,1) negatif iken, 4 olgu (%14,3) ise "inconclusive" gruptaydı. p16 negatifliği saptanan 11 olgunun 8' inin (%72,7) yüksek risk grubunda olduğu gözlemlendi ve düşük risk grubunda saptanan pozitif p16 olgu oranının fazlalığı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,036$ ). Çalışmamızda lokalizasyona göre p16 boyanma farkı saptanmadı. p16 boyanması açısından histomorfolojik özelliklerden



istatistiksel olarak anlamlı fark bulunanlar, çap ve nekroz varlığı idi. Çapı  $\leq 5$ cm'den küçük olan olgularda p16 boyanma oranı daha fazla idi. Schneider-Stock ve ark. (56), çalışmalarında p16 kaybını nekroz varlığı ile ilişkilendiremediklerini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise, nekroz görülen olgularda p16 boyanma kaybının daha fazla olduğu görüldü. Ayrıca çalışmamızda, p16 immünohistokimyasal boyamasında pek çok antijen geri kazanım yöntemleri ve çeşitli dilüsyon oranları deneyerek, en iyi sonucu otomatik boyama cihazında aldığımızı, nükleer boyamayı esas alsak da sitoplazmik boyanmanın değerlendirmede sorunlar yaratabileceğini gördük. Sonuç olarak, GİST'lerin prognozunu belirlemede p16 immünohistokimyasal boyaması faydalı olabilir. Ancak literatürde, GİST'lerdeki p16 ekspresyonu ile ilgili, örneğin hangi eşik değerini aşırı ekspresyon olarak yorumlanması gerektiği gibi, netlik kazanmamış noktalar vardır. Ayrıca literatür ve çalışmamızla çelişkili olarak, yüzbir olguluk bir başka seride, p16 pozitifliği için %50'nin üzeri pozitif kabul edildiğinde, p16 pozitiflik oranının yüksek risk grubunda daha fazla olduğu belirtilmiştir (58). Kendi bulgularımızla birlikte yorumladığımızda, klinik prediktif değeri açısından rutin kullanımını öneren araştırmacıların aksine, uzun klinik takip sürelerine sahip daha geniş serilerle çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

GİST'lerde E2F1 ekspresyonunu araştıran az sayıda çalışma mevcuttur. Haller F. ve ark. (14) yüksek E2F1 mRNA ve protein ekspresyonunun, yüksek mitoz sayısı ( $>5/50$ BBA) ile anlamlı olarak ilişkili olduğunu göstermişler ve GİST'lerin prognozunu belirlemede yararlı bir ek belirleyici olabileceğini belirtmişlerdir (14). Sabah M. ve ark. (57), yaptıkları çalışmada, malign GİST'lerde, E2F1' in nükleer pozitiflik oranını daha fazla bulmuşlar ve bunu agresif davranışla ilişkilendirmişlerdir. Çalışmamızda yüksek risk grubundaki E2F1 boyanma yüzde ortancası 10,1 (0-48,6) iken orta risk grubunda 4 (0-10,3) ve düşük risk grubundaki yüzde ortancası ise 1,55(0-13,) idi. Literatürle uyumlu olarak yüksek risk grubundaki olgularda düşük risk grubuna göre E2F1 ekspresyonunun daha fazla olduğu görüldü ( $p=0,004$ ). Çapı 5 cm'den büyük olan tümörlerde, E2F1 ekspresyonu daha fazlaydı ( $p=0,02$ ). E2F1 boyanması, artmış hücreyel yoğunluk gösteren veya nekroz içeren tümörlerde artmıştı ( $p=0,03$  ve  $p=0,02$ ). Mitoz sayısı yüksek olan ve olmayan ( $>5$  ve  $\leq 5/50$ BBA) tümörler arasında, E2F1 boyanması anlamlı olarak farklıydı ( $p=0,01$ ). Yüksek mitoz sayısını yüksek proliferasyon aktivitesi göstergesi olarak kabul ettiğimizde, E2F1 ekspresyonundaki artışın agresif klinik seyirle ilişkilendirebileceği sonucuna varılabilir.

p16 veya E2F1 boyanmasını, klinik olarak benign davranış sergileyen tümörler ile agresif davranışa sahip tümörler arasında karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı



bir farklılık gösteremedik. Ancak bu moleküllerin immünekspresyonları, artmış mitoz, nekroz, büyük tümör çapı, hücrel yoğunluk gibi agresif klinik seyirle birlikteliği bilinen bazı histomorfolojik parametrelerle ilişkilendirilebileceğini gördük, dolayısıyla bu moleküllerin prognostik önemleri olduğu kanısındayız.

Bulgularımızı, literatür eşliğinde değerlendirdiğimizde, risk sınıflandırmasında baktığımız, mitoz sayısı ve çap yanısıra diğer tüm histomorfolojik özelliklerin GİST'lerde malign davranışı belirlemede önemli olduğunu, bunların patoloji raporunda belirtilmesi gerektiği sonucuna vardık. Aynı zamanda, GİST'lerin tanısında CD117 boyanmasına ek olarak CD34 ve PKC $\theta$  boyanmalarının birlikte yapılmasının, CD34'ün başka tümörlerde de pozitifliği görülebileceğinden ya da CD117 negatif olguları yakalama şansını arttıracığından oldukça faydalı olacağı kanısına vardık. GİST'lerde p16 ve E2F1 ekspresyonunu değerlendirmenin, klinik olarak bu tümörlerin nasıl davranacağını tahmin etmede yol gösterebileceğini düşündük.

## 6- SONUÇLAR

1- GİST'lerde CD117 ve CD34 en önemli belirleyicidir. Değişen oranlarda pozitifliği gözlenen SMA, S-100 protein ve desmin boyamalarının, histomorfolojik olarak GİST olduğu düşünülen tümörlerde, CD117 ve /veya CD34 negatifliği saptandığı takdirde ayırıcı tanı için uygulanabileceği düşüncesindeyiz.

2- İCH ve GİST'lerde pozitifliği gösterilmiş PKCθ'nın duyarlılığı çalışmamızda %70,2 bulunmuştur. CD117 negatif GİST'lerin olduğu, CD34'ün fokal olarak pek çok mezenkimal tümörde boyanabildiği göz önüne alındığında, özgüllüğü de kanıtlandığı takdirde PKCθ'nın GİST tanısında faydalı olabileceği düşünülmüştür.

3- Çalışmamızda mukozal invazyon, infiltratif gelişim paterni, artmış hücresel yoğunluk, yaygın pleomorfizm ve tümör nekrozu daha çok yüksek risk grubunda görülmüştür. İstatistiksel olarak bunlardan anlamlı olan sadece pleomorfizm idi. Tüm bu parametrelerin değerlendirilip patoloji raporunda belirtilmesi tümörün klinik davranışı ile ilgili öngörüde bulunmaya katkı sağlayacaktır.

4- Literatürle uyumlu olarak, çalışmamızda p16 boyanma kaybının yüksek risk grubunda, pozitifliğinin ise düşük risk grubunda daha fazla olduğu görülmüştür (p=0,036).

5- E2F1, GİST' lerde malign klinik davranışla ilişkilidir ve klinik seyri önceden tahmin etmede kullanılabilir.

## 7- KAYNAKLAR

- 1- Miettinen M., Lasota J., Gastrointestinal Stromal Tumors; Review on Morphology, Molecular Pathology, Prognosis, and Differential Diagnosis. Arch. Pathology Lab. Med. Vol. 130
- 2- Fletcher C, Berman J, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Miettinen M, Rubin B, Weiss S. , Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors:A consensus approach. Hum Pathol 2002;33:459-465
- 3- Deitos AP. The reappraisal of gastrointestinal stromal tumors: from stout to the KIT revolution. Virchows Arch 2003; 442: 421-428.
- 4- Sturgeon C, Cheifec G, Espat NJ. Gastrointestinal stromal tumors: a spectrum of disease. Surgical Oncology 2003; 12: 21-26.
- 5- Connolly EM, Gaffney E, Reynolds JV. Gastrointestinal stromal tumors. British Journal of Surgery 2003; 90: 1178-1186.
- 6- Miettinen M, Lasota J:Gastrointestinal stromal tumors:definition, clinical, histological, immunohistochemical and molecular genetic features and differential diagnosis. Virchows Arch 2001;438:1-12
- 7- Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, et al.: Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. Science 1998, 279:577–580.
- 8- Hirota S, Isozaki K. Pathology of gastrointestinal stromal tumors. Pathol Int. 2006 Jan;56(1):1-9.
- 9- Duffaud F, Blay JY. Gastrointestinal stromal tumors: biology and treatment. Oncology 2003; 65: 187-197.
- 10- Southwell BR. Localization of protein kinase C immunoreactivity to interstitial cells of Cajal in guinea-pig gastrointestinal tract. Neurogastroenterol Motil 2003;15
- 11- Poole DP, Hunne B, Robbins HL, Furness JB. Protein kinase C isoforms in the enteric nervous system. Histochem Cell Biol 2003;120:51–61.
- 12- Schneider-Stock R., Boltze C., Lasota J., Miettinen M., High Prognostic Value of p16<sup>INK4</sup> Alterations in Gastrointestinal Stromal Tumors *Journal of Clinical Oncology*, Vol 21, 2003: 1688-1697
- 13- Sabah M., Cummins R., Leader M., and Kay E., Loss of heterozygosity of chromosome 9p and loss of p16INK4A expression are associated with malignant gastrointestinal stromal tumors . *Modern Pathology* (2004) 17, 1364–1371

- 14- Haller F., Gunawan B., Heydebreck A., Schwager S., Prognostic Role of E2F1 and Members of the CDKN2A Network in Gastrointestinal Stromal Tumors . *Clinical Cancer Research* (2005) Vol. 11, 6589-6597.
- 15- Herrera G.A., Cerezo L., Jones J.A., Sack J., Grizzle W.E., Pollack W.J. ve Lott R.J. (1989), Gastrointestinal autonomic nerve tumors "plexosarcomas". *Arch. Pathol.*, 113, 846-855.
- 16- Lauwers G.Y., Erlandson R.A., Casper E.S., Brennan M.F. ve Woodruff J.M. (1993), Gastrointestinal autonomic nerve tumors: A clinicopathologic, immunohistochemical and ultrastructural study of 12 cases. *Am. J. Surg. Pathol.*,17(9), 887-897.
- 17- Miettinen M., Sarlomo-Rikala M. ve Lasota J. (1999), Gastrointestinal stromal tumors: Recent advances in understanding of their biology. *Hum. Pathol.*, 30(10),1213-1219.
- 18- Graadt van Roggen J.F., Velthuysen M.L.F. ve Hogendoorn P.C.W. (2001), The histopathological differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumours. *J. Clin. Pathol.*, 54, 96-103.
- 19- Rosai J. *Ackerman's Surgical Pathology*. (2004 ); 734-738
- 20- Greenson JK. Gastrointestinal stromal tumors and other mesenchymal lesions of the gut. *Mod Pathol* 2003; 16: 366-375.
- 21- Miettinen M, Rikala M, Sobin LH, Lasota J: Gastrointestinal stromal tumors and leiomyosarcomas in the colon:A clinicopathologic,immunohistochemical and molecular genetic study of 44 cases *Am J Surg Pathol* 2000; 24(10):1339-1352
- 22- Miettinen M, Rikala M, Sobin L: Esophageal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 2000; 24(2): 211-222
- 23- Miettinen M, Sobin LH, Lasota J: Gastrointestinal Stromal Tumors of the Stomach: A Clinicopathologic, Immunohistochemical and Molecular Genetic Study of 1765 Cases With Long-term Follow-up. *Am J Surg Pathol* 2005; 29:52-68
- 24- Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC: Biology of Gastrointestinal Stromal Tumors. *JCO* 2004; 22:3813-3825
- 25-Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Sobin LH: A clinicopathologic, immunohistochemical and molecular genetic study of 17 cases and comparison with esophageal leiomyomas and leiomyosarcomas. *Am J Surg Pathol* 2000; 24:211-222.
- 26- Emory TS, Sobin LH, Lukes L:Prognosis of gastrointestinal smooth-muscle (stromal) tumors:dependence on anatomic site. *Am J Pathol* 1999 23(1):82-87
- 27- Sass DA, Chopra KB, Finkelstein SD, Schauer PR: Jejunal Gastrointestinal Stromal Tumor. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128:214-217

- 28- Heinrich M.C., Rubin B.P., Longley B.J. ve Fletcher J.A. (2002), Biology and genetic aspects of gastrointestinal stromal tumors: KIT activation and cytogenetic alterations. *Hum. Pathol.*, 33(5), 484-495.
- 29- Sarlomo-Rikala M., Kovatich A.J., Barusevicius A. ve Miettinen M. (1998), CD117: A sensitive marker for gastrointestinal stromal tumors that is more specific than CD34. *Mod. Pathol.*, 11(8), 728-734.
- 30- Hirota S., Nishida T., Isozaki K., Taniguchi M., Nakamura J., Okazaki T. ve Kitamura Y. (2001), Gain-of-function mutation at the extracellular domain of KIT in gastrointestinal stromal tumors. *J. Pathol.*, 193, 505-510.
- 31- Heinrich M.C., Rubin B.P., Longley B.J. ve Fletcher J.A. (2002), Biology and genetic aspects of gastrointestinal stromal tumors: KIT activation and cytogenetic alterations. *Hum. Pathol.*, 33(5), 484-495.
- 32- Heinrich M.C., Blanke CD., Druker B.J. ve Corless C.L. (2002), Inhibition of KIT tyrosine kinase activity: A novel molekular approach to the treatment of KIT-positive malignancies. *J. Clin. Oncol.*, 20, 1692-1703.
- 33- Sarlomo-Rikala M., Kovatich A.J., Barusevicius A. ve Miettinen M. (1998), CD117: A sensitive marker for gastrointestinal stromal tumors that is more specific than CD34. *Mod. Pathol.*, 11(8), 728-734.
- 34- Miettinen M., Virolainen M. ve Sarlomo-Rikala M. (1995), Gastrointestinal stromal tumors- Value of CD34 antijen in their identification and separation from true leiomyomas and schwannomas. *Am. J. Surg. Pathol.*, 19(2), 207-216.
- 35- Monihan J.M., Carr N.J. ve Sobin L.H. (1994), CD34 immunoexpression in stromal tumours of the gastrointestinal tract and in mesenteric fibromatoses. *Histopathology*, 25, 469-473.
- 36- Rijn M, Hendrickson M, Rouse R: CD34 Expression by gastrointestinal tract stromal tumors. *Hum Pathol* 1994;25:766-771
- 37- Miettinen M., Furlong M., Sarlomo-Rikala M., Burke A., Sobin L.H. ve Lasota J. (2001), Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the rectum and anus: A clinicopathologic, irnmunohistochemical, and molecular genetic study of 144 cases. *Am. J. Surg. Pathol*, 25(9), 1121-1133.
- 38- Kindblom L-G., Remotti H.E., Aldenborg F. ve Kindblom J.M. (1998), Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GPACT). *Am. J. Pathol.*, 152(5), 1259-1269.
- 39- Sircar K., Hewlett B.R., Huizinga J.D., Chomeyko K., Berezin I. ve Riddell R.H. (1999), Interstitial cells of cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. *Am. J. Surg. Pathol.*, 23(4), 377-389.
- 40- Goldstein NS, Silverman JF: Immunohistochemistry of the gastrointestinal tract, pancreas, bile ducts, gallbiadder and liver. In: Dabbs DJ (ed). *Diagnostic*

Immunohistochemistry New York, Edinburgh, London, Philadelphia: Churchill Livingstone 2002;333-406.

41- Yamaguchi U, Hasegawa T, Masuda T, Sekine S, Kawai A, Chuman H, Shimoda T. Differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumor and other spindle cell tumors in the gastrointestinal tract based on immunohistochemical analysis. *Virchows Arch* 2004; 445: 142-150.

42- Cerilli LA, Wick MR: immunohistology of soft tissue and osseous neoplasms. In: Dabbs DJ (ed). *Diagnostic immunohistochemistry*. New York, Edinburgh, London, Philadelphia: Churchill Livingstone 2002;59-112.

43- Miettinen M, Sarlomo-ikala M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: recent advances in understanding of their biology. *Human Pathology* 1999; 30: 1213-1220

44- Miettinen M, Sobin LH, Sarlomo-Rikala M. Immunohistochemical spectrum of GISTs at different sites and their differential diagnosis with a reference to CD117 (KIT). *Mod Pathol* 2000; 13: 1134-1142.

45- Miettinen M, El-Rifai W, Sobin L, Lasota J: Evaluation of malignancy and prognosis of gastrointestinal stromal tumors :A review . *Hum Pathol* 2002;33:478-483

46- Franquemont DW . Differentiation and risk assessment of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 41-47.

47- Cunningham, Robert E. M.S.; Abbondanzo, Susan L. M.D.; Chu, Wei-Sing M.D.; Emory, Theresa S. M.D.; Sobin, Leslie H. M.D.; O'Leary, Timothy J. Ph.D., M.D. Apoptosis, bcl-2 Expression, and p53 Expression in Gastrointestinal Stromal/Smooth Muscle Tumors *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*: March 2001 - Volume 9 - Issue 1 - pp 19-23

48- Wong NACS, Young R, Malcomson RDG, Nayar AG, Jamieson LA, Save VE, Carey FA, Brewster DH, Han C, Al-Nafussi A. Prognostic indicators for gastrointestinal stromal tumors: a clinipathological and immunohistochemical study of 108 resected cases of the stomach. *Histopathology* 2003; 43: 118-126.

49- Dematteo RP, Heinrich MC, El-Rifai WM, Demetri G. Clinical management of gastrointestinal stromal tumors: before and after STI-571. *Human Pathology* 2002; 33: 466-477.

50- Villalba M., Altman A. Protein kinase C-  $\theta$  (PKC  $\theta$ ), a potential Drug Target for therapeutic intervention with human T cell leukemias. *Current Cancer Drug Targets*, 2002, 2, 125-134

- 51- Altman A., Villalba M., Protein Kinase C-  $\theta$  (PKC  $\theta$ ) , it's all about location. *Immunological Reviews* (2003), Vol. 192: 53-63
- 52- Poole D., Nguyen T., Kawai M., Protein kinases expressed by interstitial cells of cajal. *Histochem Cell Biol* (2004)
- 53- Duensing A., Joseph N., Protein Kinase C theta Expression and Constitutive Activation in Gastrointestinal Stromal Tumors (GISTs). *Cancer Research* 64, 5127-5131.
- 54- O'Neill JC, Mc Cluggage WG. p16 Expression in the female genital tract and its value in diagnosis. *Adv Anat Pathol* 2006; 13:8-15.
- 55- Angus G, Leong A, Carter J, Cheerala B. p16(INK4a) as a complementary marker of high-grade intraepithelial lesions of the uterine cervix : Experience with squamous lesions in 189 consecutive cervical biopsies. *Pathology*. 2005 ;37:112-124.
- 56- Schneider-Stock R, Boltze C, Lasota J., Loss of p16 protein defines high-risk patients with gastrointestinal stromal tumors: atissue microarray study. *Clinical Cancer Research* Vol. 11, 638-64, 2005
- 57- Sabah M., Cummins R., Leader M., Altered expression of cell cycle regulatory proteins in gastrointesinal stromal tumors: markers with potential prognostic implications. *Human pathology* (2006) 37, 648-655
- 58- Schmieder M., Wolf S., Danner B., p16 Expression Differentiates High-Risk Gastrointesinal Stromal Tumor and Predicts Poor Outcome, *Neoplasia* (2008), 10; 1154-1162
- 59- Onda M., Nagai H., Yoshida A., Up-regulation of transcriptional factor E2F1 in papillary and anaplastic thyoid cancers. *The Japan Society of Human Genetics and Springer- Verlag* (2004)
- 60- Lee J., Park C., Park J., Impact of E2F1 Expression on Clinical Outcome of gastric Adenocarcinoma Patients with Adjuvant Chemoradiation Therapy. *Clinical Cancer Research* (2008)
- 61- Tsai M., Lin, J., Lin S., Prognostic Analysis of Rectal Stromal Tumors by Reference of National Institutes of Health Risk Categories and Immunohistochemical Studies. *Diseases of the colon and rectum* (2008).
- 62- Hornick JL, Fletcher CD. Immunohistochemical staining for KIT (CD117) in soft tissue sarcomas is very limited in distribution. *Am J Clin Pathol*. 2002 Feb;117(2):188-93.
- 63- Yantiss RK, Spiro IJ, Compton CC, Rosenberg AE. Gastrointestinal stromal tumor versus intra-abdominal fibromatosis of the bowel wall: a clinically important differential diagnosis. *Am J Surg Pathol*. 2000 Jul;24(7): 947-57.

- 64- Motegi A., Sakurai S., Nakayama H., PKC theta , a novel immunohistochemical marker for gastrointestinal stromal tumors (GIST), especially useful for identifying KIT-negative tumors. *Pathology International* 2005; 55: 106-112
- 65- Mee Kim K., Wook Kang D., Sung Moon W. PKC  $\theta$  expression in gastrointestinal stromal tumor. *Modern pathology* (2006) 19; 1480- 1486
- 66- Ming s-c. And Goldman H. *Pathology of the gastrointestinal Tract*. Saunders, Philadelphia.
- 67- Somerhausen N, Fletcher CDM. Gastro-intestinal stromal tumours: an update. *Sarcoma* 1998;2:131–41.
- 68- Kurman R., Blaustein's *Pathology of the Female Genital Tract*, 5th ed. 580- 581
- 69- Badalamenti G., Rodolico V., Fulfaro F., *Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): focus on histopathological diagnosis and biomolecular features*. 2007 European Society for Medical Oncology
- 70- Casali P. G., Jost L., Reichardt P., Schlemmer M. *Gastrointestinal stromal tumors: ESMO Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow –up*. 2008 European Society for Medical Oncology